



**IMPACTO DE LA RESPUESTA VIRAL SOSTENIDA EN EL DESARROLLO DE  
COMPLICACIONES Y MEJORA DE LA RIGIDEZ HEPATICA EN UNA  
COHORTE DE PACIENTES CON HEPATITIS CRÓNICA C TRATADOS CON  
TRIPLE TERAPIA Y ANTIVIRALES DE ACCION DIRECTA.**

# **TESIS DOCTORAL**

**Christie Perelló Muñoz**

Madrid, Junio 2017

**UNIVERSIDAD AUTONOMA DE MADRID  
FACULTAD DE MEDICINA  
DEPARTAMENTO DE MEDICINA**



**IMPACTO DE LA RESPUESTA VIRAL SOSTENIDA EN EL  
DESARROLLO DE COMPLICACIONES Y MEJORA DE LA RIGIDEZ  
HEPATICA EN UNA COHORTE DE PACIENTES CON HEPATITIS  
CRÓNICA C TRATADOS CON TRIPLE TERAPIA Y ANTIVIRALES DE  
ACCION DIRECTA.**

**TESIS DOCTORAL**

Presentada por:

Christie Perelló Muñoz,

para optar al grado de Doctor en Medicina por la Universidad  
Autónoma de Madrid

Dirigida por:

Dr. José Luis Calleja Panero

Madrid, Junio 2017

*A mis padres.*



## INDICE

RESUMEN .....	15
I. INTRODUCCIÓN .....	19
1. VIRUS DE LA HEPATITIS C: .....	20
1.1 Epidemiología y transmisión .....	20
1.2 Etiología, Biología Molecular y Ciclo Vital .....	23
1.3 Variabilidad Genética y Genotipos .....	25
1.4 Historia Natural .....	26
1.4.1 Hepatitis aguda .....	27
1.4.2 Hepatitis crónica.....	28
1.4.2.1 Fibrogénesis.....	29
1.4.2.2 Angiogénesis.....	29
1.4.2.3 Hipertensión Portal.....	30
1.4.3 Cirrosis compensada y descompensada .....	30
1.4.3.1 Carcinoma hepatocelular.....	31
1.4.4 Factores asociados con la progresión del virus de la hepatitis C. ....	31
2.0 DIAGNOSTICO.....	33
2.1 Técnicas cualitativas de detección de ARN-VHC .....	34
2.2 Técnicas de cuantificación del ARN-VHC.....	35
2.3 Determinación serológica del genotipo del VHC (serotipo).....	35
3.0 TRATAMIENTO DEL VIRUS DE LA HEPATITIS C .....	36
3.1. Tratamientos con interferón .....	37
3.2. Tratamientos libres de interferón actualmente aprobados. ....	38
4.0 FIBROSIS Y VIRUS C.....	41
4.1 Mecanismo de la fibrosis hepática en la hepatitis crónica .....	41
4.1.1 Mecanismo celular y molecular de la fibrosis hepática.....	42
4.1.2 Bases biológicas de la fibrosis hepática.....	42

4.1.3 Degradación de la matriz extracelular.....	43
4.2 Fisiopatogenia de la fibrosis hepática.....	44
4.2.1 Activación de las células estrelladas.....	44
4.2.2 Capilarización de los sinudoides.....	45
4.3. Marcadores Directos e Indirectos de Fibrosis Hepática.....	46
4.4. Métodos no invasivos de fibrosis.....	46
4.4.1 Métodos serológicos indirectos.....	46
4.4.2 Métodos serológicos directos.....	49
4.4.3 Métodos físicos.....	50
4.4.4 Métodos invasivos.....	52
5.0 RESPUESTA AL TRATAMIENTO ANTIVIRAL Y MEJORIA DE LA FIBROSIS HEPATICA .....	52
5.1 Reversibilidad de la fibrosis.....	52
5.2 Impacto de la respuesta viral sostenida en la mejoría de la fibrosis .....	54
5.3 Implicaciones de la RVS a largo plazo y su influencia en el desarrollo de complicaciones .....	56
III. OBJETIVOS .....	59
3.1 OBJETIVOS PRIMARIOS: .....	60
3.2 OBJETIVOS SECUNDARIOS:.....	60
IV. PACIENTES Y MÉTODOS .....	61
4.1 Diseño del estudio.....	62
4.2 Población de estudio.....	62
4.3 Criterios de Selección .....	63
4.4 Variables analizadas .....	63
4.4.1 Datos demográficos y epidemiológicos .....	63
4.4.2 Determinaciones de laboratorio .....	63
4.4.3 Determinación de la carga viral.....	63
4.4.4 Determinación del genotipo viral.....	64
4.4.5 Análisis del polimorfismo del gen IL28B (rs12979860) .....	64

4.4.6 Análisis de la fibrosis .....	64
4.4.7 Variables asociadas al tratamiento antiviral: .....	64
4.4.8 Variables relacionadas con la efectividad .....	65
4.4.9 Variables relacionadas con la descompensación .....	65
4.4.10 Variables relacionadas a la mejoría o regresión de la fibrosis .....	66
4.5 Análisis estadístico .....	66
4.5.1 Estudio descriptivo .....	66
4.5.2 Análisis de regresión logística .....	67
4.6 Análisis de las variables .....	68
4.6.1 Análisis de datos demográficos y características basales .....	68
4.6.2 Análisis del tipo de tratamiento antiviral .....	68
4.6.3 Análisis de los factores asociados con la Respuesta Viral Sostenida .....	68
4.6.4 Análisis del impacto de la RVS sobre la descompensación hepática .....	68
4.6.5 Análisis del impacto de la RVS sobre la mejoría de la rigidez hepática .....	68
4.6.6 Análisis del impacto de la RVS y la incidencia del Carcinoma hepatocelular	
V. RESULTADOS .....	69
COHORTE A: PACIENTES TRATADOS CON TRIPLE TERAPIA (INTERFERÓN-PEGILADO + INHIBIDOR DE PROTEASA DE PRIMERA GENERACIÓN + RIBAVIRINA) .....	71
COHORTE B: PACIENTES TRATADOS CON ANTIVIRALES DE ACCIÓN DIRECTA (AAD) CON O SIN RIBAVIRINA.....	91
VI. DISCUSIÓN .....	117
VII. CONCLUSIONES.....	129
VIII. BIBLIOGRAFIA.....	131

## INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Incidencia global VHC. ....	21
Figura 2. Prevalencia del virus C según su distribución geográfica.....	22
Figura 3. Genoma del Virus C.....	25
Figura 4. Historia natural de la infección del VHC.....	26
Figura 5. Patogénesis de la fibrosis hepática .....	43
Figura 6. Repercusión de los cambios fenotípicos de las células estrelladas activadas en la fibrosis hepática. ....	45



## INDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Esquema global de los pacientes incluidos .....	70
Gráfico 2. Distribución global de tratamiento con Triple terapia .....	79
Gráfico 3. RVS en pacientes con Telaprevir y Boceprevir .....	79
Gráfico 4. Respuesta viral sostenida en pacientes con fibrosis F4.....	80
Gráfico 5. RVS según grado de fibrosis en Triple terapia .....	80
Gráfico 6. Descompensación hepática global en Triple terapia.....	85
Gráfico 7. Descompensación y respuesta viral sostenida .....	86
<i>Gráfico 8. Probabilidad acumulada de descompensación hepática en Triple terapia .....</i>	<i>87</i>
Gráfico 9. Necesidad de trasplante hepático en Triple terapia .....	88
Gráfico 10. Resumen de eventos clínicos en pacientes F4 tratados con Triple terapia .....	88
Gráfico 11. Mejoría de la rigidez hepática en la población global .....	89
<i>Gráfico 12. Distribución global de tratamiento con AAD .....</i>	<i>93</i>
Gráfico 13. Distribución global de tratamiento con AAD en pacientes F4.....	95
Gráfico 14. RVS en población global con AAD.....	98
<i>Gráfico 15. RVS en pacientes F4 con AAD .....</i>	<i>99</i>
Gráfico 16. RVS según grado de fibrosis en AAD .....	99
Gráfico 17. Relación temporal con la descompensación .....	104
Gráfico 18. Descompensación y respuesta viral sostenida .....	106
Gráfico 19. Probabilidad acumulada de descompensación hepática en AAD .....	107
Gráfico 20. Necesidad de trasplante hepático .....	108
Gráfico 21. Distribución global de Fibroscan basal en AAD .....	108
Gráfico 22. Distribución de Fibroscan un año post tratamiento.....	109
Gráfico 23. Mejoría de la rigidez hepática en la población global .....	110
Gráfico 24. Incidencia global de Carcinoma hepatocelular.....	111
Gráfico 25. Incidencia del CHC y RVS en la cohorte Triple terapia .....	115
Gráfico 26. Incidencia del CHC y RVS en la cohorte AAD .....	116

## INDICE DE TABLAS

Tabla 1 . Diferentes técnicas de cuantificación del ARN-VHC.....	35
Tabla 2 . Antivirales de acción directa autorizados en España (última revisión marzo 2017) ....	41
Tabla 3 . Variables analizadas.....	67
Tabla 4 . Características basales de la población global.....	72
Tabla 5 . Características basales de pacientes tratados con Telaprevir y Boceprevir.....	73
Tabla 6 . Parámetros analíticos basales de la población global .....	74
Tabla 7 . Parámetros analíticos basales de Telaprevir y Boceprevir .....	75
Tabla 8 . Características basales de pacientes con fibrosis grado 4.....	76
Tabla 9 . Características basales de pacientes F4 con Telaprevir y Boceprevir .....	77
<i>Tabla 10 . Parámetros analíticos basales de pacientes F4 global.....</i>	<i>78</i>
Tabla 11 . Parámetros analíticos basales de pacientes F4 tratados con Telaprevir y Boceprevir. .....	78
Tabla 12 . Factores asociados a la RVS. ....	82
Tabla 13 . Características basales de pacientes descompensados. ....	84
Tabla 14 . Tipo de descompensación hepática .....	85
Tabla 15. Características basales de la población global. ....	92
<i>Tabla 16. Parámetros analíticos basales de la población global. ....</i>	<i>94</i>
Tabla 17. Características basales de pacientes F4. ....	96
Tabla 18. Parámetros analíticos basales de pacientes con fibrosis grado 4. ....	97
<i>Tabla 19. Factores asociados a la RVS. ....</i>	<i>101</i>
<i>Tabla 20. Características basales de pacientes descompensados .....</i>	<i>103</i>
Tabla 21. Numero de eventos clínicos .....	105
<i>Tabla 22. Características basales de pacientes tratados con triple terapia que desarrollan CHC .....</i>	<i>114</i>
Tabla 23. Características basales de pacientes tratados con AAD que desarrollan <b>CHC</b> .....	114

## RESUMEN

**Antecedentes:** El tratamiento antiviral en la infección por VHC consigue una respuesta viral sostenida (RVS) muy alta en pacientes con infección crónica por virus C. El objetivo de este estudio fue evaluar el impacto de la respuesta viral sostenida en el desarrollo de descompensación hepática y la mejoría de la rigidez hepática en una cohorte de pacientes tratado con Triple Terapia (TT), consistente en interferón , Ribavirina y Boceprevir o Telaprevir, o con antivirales de acción directa (AAD) por vía oral .

**Métodos:** Análisis retrospectivo de una cohorte de pacientes consecutivos recogida prospectivamente en 3 hospitales españoles. Se analizó el impacto de la respuesta viral sostenida en el desarrollo de descompensación clínica y mejoría de la rigidez hepática mediante elastografía de transición ó Fibroscan® en una cohorte de pacientes tratados con triple terapia y una cohorte tratada con diferentes combinaciones de Antivirales de Acción Directa en el periodo comprendido desde Diciembre 2008 hasta Mayo 2015. Los pacientes fueron incluidos en el estudio de forma consecutiva tras la visita en las consultas monográficas de Hepatitis virales de cada uno de los Hospitales participantes. Todos los pacientes incluidos en este estudio estaban diagnosticados de infección crónica por el virus de la Hepatitis C, eran o pre-tratados, con genotipos 1, 2, 3, 4 y 5 en el ámbito de la práctica clínica habitual

**Resultados:** Se incluyeron de forma consecutiva un total de 594 pacientes desde diciembre 2008 hasta mayo 2015, en los que se recogieron variables demográficas, hematológicas, bioquímicas, del tratamiento, clínicas como descompensación y de elastografía hepática. Se realizó un seguimiento de todos los pacientes desde el inicio del tratamiento hasta 1 año después de su finalización. Ningún paciente al momento de su inclusión, presentaba descompensación clínica o estaban trasplantados. Del total de los 594 pacientes incluidos, un total de 56 pacientes se excluyeron por haber presentado datos previos de descompensación hepática. En el grupo de TT se incluyeron 304 pacientes y en AAD 234.

Un 64,5% (n=196/304) en el grupo TT y un 97,8% (n=229/234) en AAD alcanzó una RVS. Los pacientes en el grupo TT con RVS mostraron una mayor disminución de kilopascales (Kpa) que los pacientes No-RVS (20.0KPa RVS vs 9.9KPa no RVS) ( $p < 0,001$ ). En el grupo AAD la disminución fue de 7 KPa RVS vs 1 KPa no RVS) ( $p = 0,3$ ).

De manera global un 51,5% (n = 277) fueron clasificados como F4 (136 en TT y 141 en AAD) y de estos, un 12,6% (n = 35/277) tuvieron una descompensación hepática; 24/136 (17,6%) en la cohorte de TT con un seguimiento medio de 24,6 meses y 11/141 (7,8%) en la cohorte AAD con un seguimiento medio de 24 meses. Las complicaciones más frecuentes en la cohorte TT fueron la ascitis observada en el 11% (n = 15/136) y el carcinoma hepatocelular (CHC) en el 6,6% (n = 9/136) de los pacientes; 6 (4,4%) pacientes requirieron trasplante hepático y 4 (2,9%) fallecieron. La descompensación hepática fue significativamente más baja en los pacientes con RVS (4,5% SVR vs 14,3% sin RVS) ( $p = 0,006$ ) y la probabilidad acumulada a un año de desarrollar una descompensación en RVS vs No RVS fue (4,3% RVS vs 16,3% no RVS) ( $P = 0,02$ ). En la cohorte de AAD la complicación más frecuente fue el CHC observada en el 7% (n = 10/141) de los pacientes. Un (0,7%) paciente requirió trasplante hepática y 3 (2,1%) fallecieron. La descompensación hepática fue significativamente menor en los pacientes con RVS frente a la no RVS (5,2% vs 20%)  $p = 0,2$ . La probabilidad acumulada de descompensación hepática a 1 año en el grupo de AAD fue de (1,6% SVR vs 33,7% no SVR)  $p = < 0,05$ . El análisis

multivariado en el grupo AAD muestra valores de bilirrubina relacionados con la descompensación hepática ( $p = 0,04$ ) (OR 1,026-0,5471).

En relación al CHC, con el fin de estimar el efecto de los tratamientos sobre la incidencia de CHC, se realizó un propensity score ajustándolo a las variables de riesgo asociadas a la aparición del CHC en las 2 cohortes; observamos que la probabilidad de incidencia en ambas cohortes fue similar (7% en TT vs 7.1% DAA)  $p = 0.9$ . En la cohorte de AAD la aparición de CHC ocurrió en una mediana de tiempo menor que en el grupo TT.

**Conclusiones:** La RVS en pacientes con enfermedad avanzada se asoció con una disminución de la rigidez hepática, menor tasa de descompensación y menor tasa de trasplante hepático. Con respecto al CHC, utilizando el propensity score no se observaron diferencias significativas en ambas cohortes.

# **I. INTRODUCCIÓN**

## **1. VIRUS DE LA HEPATITIS C:**

La infección por el virus de la hepatitis C (VHC) es un problema de salud que se distribuye a nivel mundial, afectando a 185 millones de personas. Se ha estimado que en el año 2015, un total de 71 millones de personas viven infectadas con este virus, estimándose su prevalencia global en aproximadamente un 1%, según el Global Hepatitis Report 2017. <sup>1</sup>

Antes del año 2015 se estimaba que la prevalencia global del VHC se encontraba en torno al 1,7%. <sup>2</sup> Con estos nuevos datos impresiona que haya habido una disminución en cuanto a su prevalencia desde la aparición de los nuevos antivirales y del cribado poblacional en grupos de riesgo. Sin embargo en el 2015 se estimó que hubo un total de 1.75 millones de nuevos infectados (tasa de incidencia global de 23,7 por cada 100,000 atribuyéndose como principal fuente de contagio a las prácticas de riesgo en el empleo de jeringuillas en la atención sanitaria y al uso de drogas por vía intravenosa). Según el último reporte, de los 71 millones de personas infectadas por el VHC, 5.6 millones (8%) actualmente se inyectan drogas. <sup>1</sup>

Cada año entre 350,000-500,000 personas mueren por complicaciones asociadas a esta enfermedad. Su prevalencia en todo el mundo varía dependiendo de la distribución geográfica. A nivel mundial, la prevalencia más alta se encuentra en la Región Mediterránea Oriental (2,3%) seguida de la Región Europea (1,5%). <sup>1,3</sup>

En los últimos años, el tratamiento antiviral para la hepatitis C ha experimentado un cambio trascendental con la aparición en el año 2011 y 2014 de los nuevos antivirales de acción directa de primera y segunda generación respectivamente; alcanzando tasas de respuesta viral sostenida (RVS) de hasta el 95%.

### **1.1 Epidemiología y transmisión**

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), en el año 2015, se estimó que existían 71 millones de personas con infección por el VHC en el mundo, representando el 1% (Figura 1). La mortalidad asociada a las hepatitis virales fue de 1,34 millones de personas; de estas muertes el 30% ocurrió por complicaciones asociada al virus de la hepatitis C. <sup>1</sup>

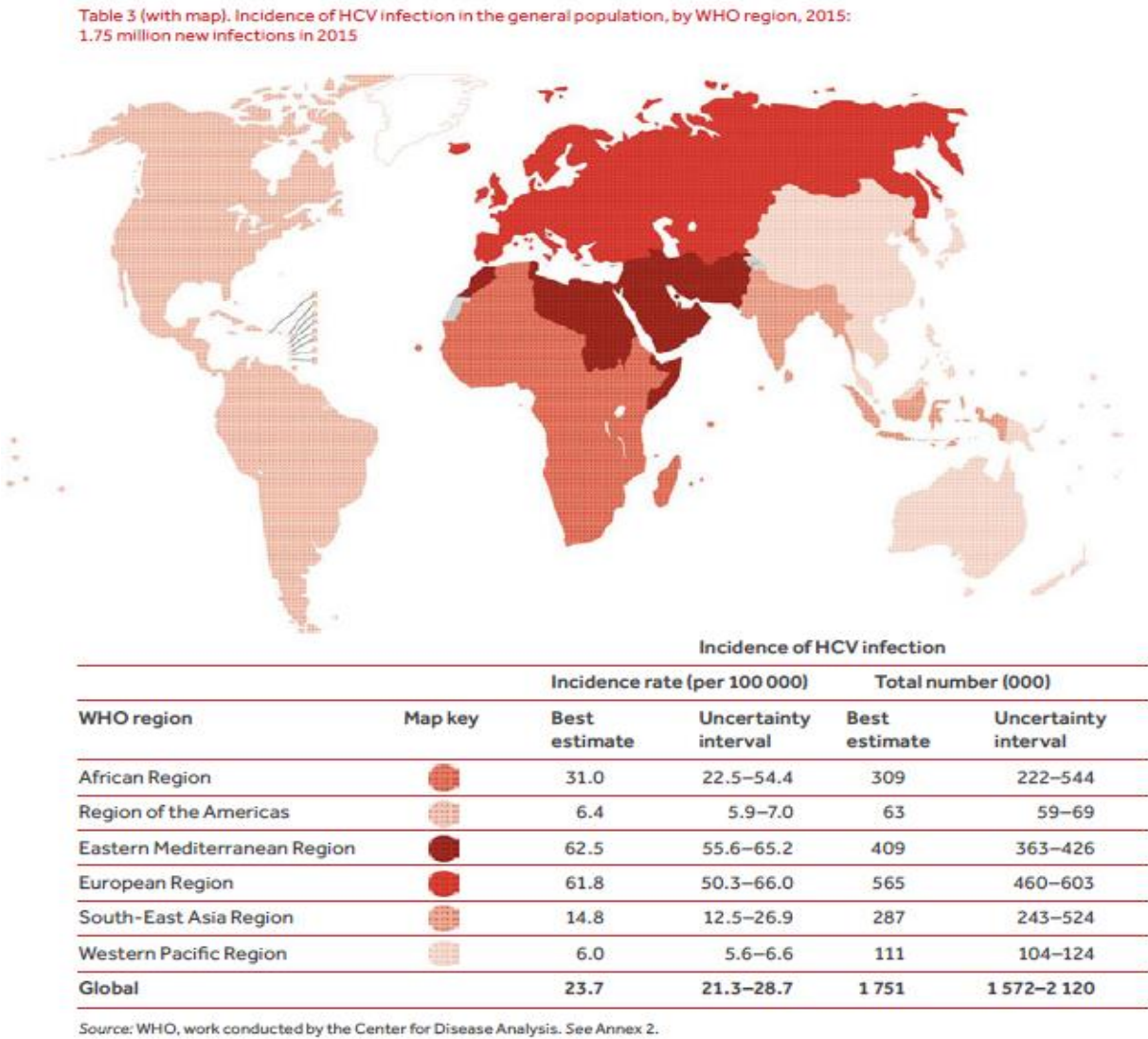
Múltiples estudios sugieren que la incidencia del VHC ha ido disminuyendo desde la segunda mitad del siglo XX, y esto es debido; a que 1) La mayoría de los países tiene prevalencia específica de edad y evidencia serológica de infección pasada o presente, lo que sugiere una menor incidencia en los últimos años. 2) Los países que realizan vigilancia para la hepatitis aguda C informaron disminuciones en las tasas de incidencia. 3) Los países que realizaron más de una búsqueda de biomarcadores, como Egipto, informaron una evolución con el tiempo,

que sugiere una disminución en la incidencia. 4) Mejoría en el empleo de jeringuillas, lo cual ha reducido la incidencia de VHC asociada a esta forma de contagio.<sup>1,45,67-9</sup>

En España, los últimos datos provienen de la Cohorte ETHON (EsTudio poblacional de enfermedades Hepáticas naciONal) que ha sido presentada por Cuadrado A. y cols en el 42º Congreso Anual de la Asociación Española para el Estudio del Hígado (AEEH) y en la que hemos participado; en el que se determinó la prevalencia de la seropositividad e infección crónica por el VHC en 3 ciudades de prevalencia alta, media y baja (Santander, Madrid y Valencia). En este estudio se observó una prevalencia global de anticuerpos frente al VHC del 1,1% y de PCR-VHC positiva correspondiente a <50% de los seropositivos.<sup>10</sup>

Entre el año 2015-16 se han tratado en España a más de 60,000 pacientes a través del plan Nacional de Hepatitis C, según lo publicado por el registro nacional de la AEEH.<sup>11</sup>

Figura 1. Incidencia global VHC.





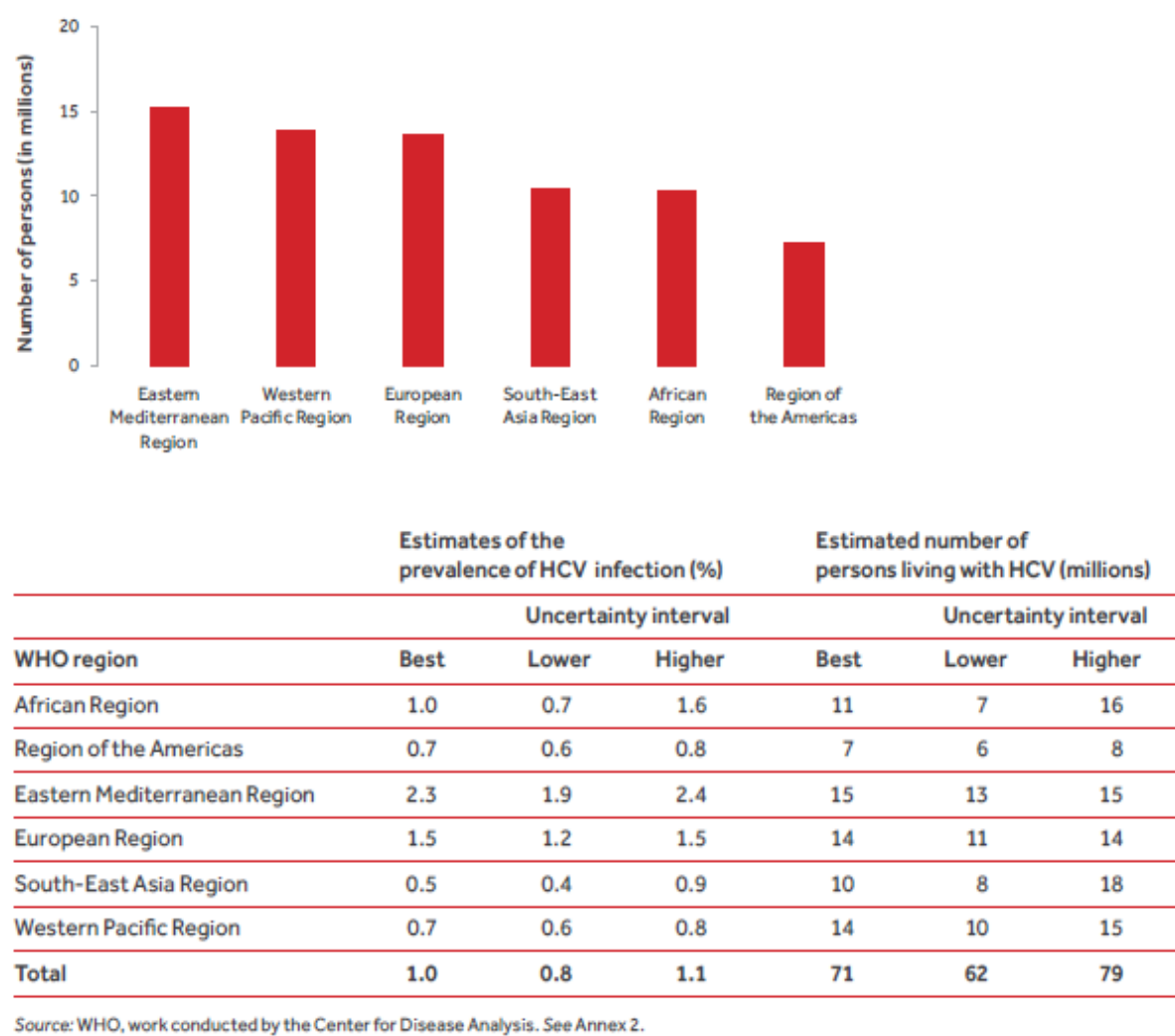
En España existen 2 grupos prevalentes en relación al virus de la hepatitis C:

- Pacientes entre 30-45 años; esta población está asociada al uso de drogas por vía parenteral.
- Pacientes > 65 años; expuestos a transfusiones sanguíneas antes del año 1990. <sup>12</sup>

**Diferencias geográficas**

La prevalencia más elevada del VHC se registra en el Este Mediterráneo (2.3%) y la Región Europea (1,5%). Le siguen en frecuencia la Región de África (1%), con una prevalencia intermedia y con una baja prevalencia la Región de América (0,7%) (Figura 2)

Figura 2. Prevalencia del virus C según su distribución geográfica



**Transmisión**

La transmisión del virus de la Hepatitis C, en términos epidemiológicos, ha tenido lugar principalmente a través del consumo de drogas por vía intravenosa o por la transfusión de

hemoderivados. Existen además otras formas de contagio como son: la transmisión vertical o perinatal, el contacto sexual, a través de accidente laboral en trabajadores sanitarios, tatuajes, piercing, hemodiálisis, etc. A pesar de ello, hasta en un 30% de los casos no existe un factor identificable.<sup>13</sup>

En relación al contagio a través de transfusiones de hemoderivados, es importante destacar que los bancos de sangre comenzaron a analizar la sangre de los donantes para detectar la presencia del VHC a principios de la década de los noventa. Afortunadamente, en la actualidad el riesgo de contraer hepatitis C a través de una transfusión sanguínea es menor de 1 por cada millón de unidades transfundidas.<sup>14</sup>

El riesgo de transmisión del VHC entre parejas monógamas es de 0-0,6 por año y en individuos promiscuos o con enfermedad de transmisión sexual se eleva hasta un 1,8% por año.<sup>15</sup>

La vía de contagio vertical o perinatal depende del estado serológico materno: Si la madre posee ARN-VHC detectable, el riesgo de transmisión es de un 4-7% y se multiplica hasta un 20-30% cuando existe infección con el VIH.<sup>16</sup>

*Forns* y colaboradores han publicado un aumento en el contagio de Hepatitis aguda C a través de ingresos hospitalarios en los últimos años, conocida como Hepatitis Nosocomial<sup>17</sup>, principalmente en las unidades de cuidados intensivos, con una prevalencia de hasta 0,27% por cada 100 enfermos ingresados.<sup>18</sup>

## **1.2 Etiología, Biología Molecular y Ciclo Vital**

El virus de la hepatitis C, muestra un marcado tropismo por los hepatocitos, al igual que los virus de la hepatitis A y B. En las décadas de los años 60 y 70 se desarrollaron métodos diagnósticos para identificar en sangre a los virus de la hepatitis B y A, respectivamente<sup>19</sup>. Sin embargo, muchas de las muestras de sangre tomadas para detectar enfermedades hepáticas producidas por transfusiones, resultaban negativas tanto para la hepatitis A como para la hepatitis B. Es por lo que, estas muestras fueran clasificadas como “hepatitis no A/ no B”. En la actualidad, se cree que el 90-95 % de los casos que entonces se clasificaron como no A/ no B en realidad eran casos de hepatitis C.<sup>13</sup>

Históricamente, el virus de la hepatitis C se identificó por primera vez en el año 1989 por *Choo* y cols. Su descubrimiento vino marcado por la utilización de métodos diagnósticos moleculares, así como por la aplicación de un nuevo enfoque científico.<sup>20</sup>

## Estructura y ciclo vital

El virus de la hepatitis C, pertenece a la familia *Flaviviridae* y al género *Hepacivirus*. Está constituido por una única molécula de ácido ribonucleico (ARN) de 9.6 Kb con polaridad positiva.<sup>21</sup>

Mide unos 30-60 nm de diámetro y su estructura está compuesta por una nucleocápside, una envoltura lipídica y la proteína del *core*.<sup>21</sup> Contiene una región 5 codificadora, un único marco de lectura abierta (ORF) y una región 3 no codificadora. Las regiones no codificadoras tienen su importancia en la replicación y traducción del ARN viral aunque no traducen proteínas. La región 3 proporciona estabilidad a la cadena de ARN, ya que facilita la síntesis de una nueva cadena de ARN y su empaquetado.<sup>21,22</sup>

La región ORF, la cual se encuentra entre las 2 regiones no traducidas, codifica un único polipéptido de 3008 hasta 3033 aminoácidos. De este polipéptido se originan tras el proceso de traducción proteica 10 polipéptidos (proteínas estructurales y no estructurales) que están implicadas en la replicación y ensamblaje del virus.

La región 5 contiene la zona interna de entrada al ribosoma (IRES) mediante el codón de inicio AUG que permite la traducción de las proteínas virales e iniciar la síntesis proteica.

La capa de lípidos sobre la cual protruyen las glicoproteínas estructurales E1 y E2 presentan regiones hipervariables implicadas en la entrada del virus dentro de la célula huésped mediante la unión a los receptores celulares y su posterior fusión. La nucleocápside está formada por la proteína *core* que muestra una región estructural más conservada por lo que constituye una diana esencial para la mayoría de métodos diagnósticos.<sup>21,22</sup>

También existe un micro ARN, miRNA-122, implicado en la replicación y traducción del virus al unirse a la zona 5', que actualmente está siendo una diana terapéutica.<sup>23</sup>

Las proteínas del virus se dividen en: Proteínas estructurales y no estructurales.

- **Las proteínas estructurales del virus:** Son la proteína del Core (C), la proteína de la cubierta 1 (E1) y la proteína de la cubierta 2 (E2).

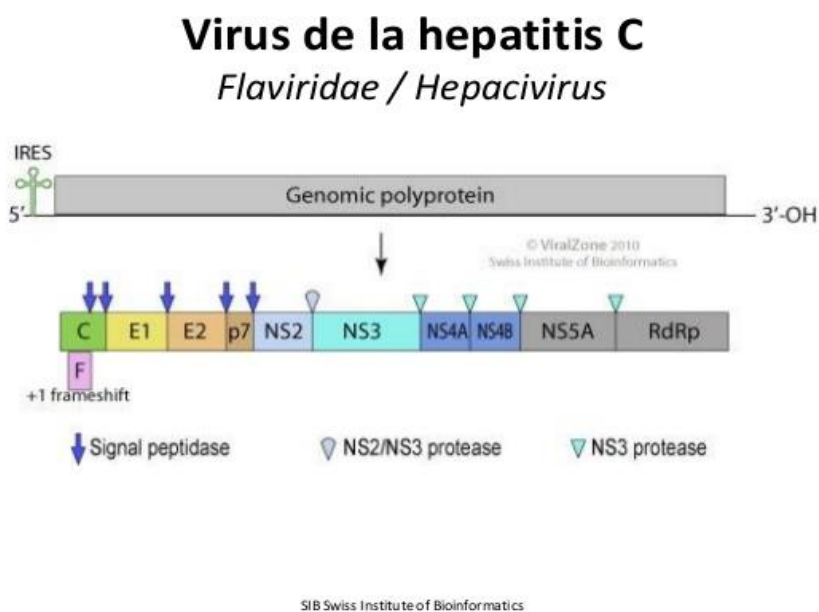
Como ya se ha mencionado anteriormente la proteína del *core* interviene en la formación de la nucleocápside y tiene capacidad para fijar el ARN. Controla las vías de señalización celular, transcripción e interacciona con proteínas del huésped. Las proteínas de la cubierta intervienen en el ensamblaje del virus. Son glicoproteínas con dominio transmembrana y se anclan a la membrana lipídica, que proviene del retículo endoplasmático de la célula huésped. Facilitan la unión entre la membrana celular del huésped y el virus, lo que permite la entrada del virus.

- **Las proteínas no estructurales:** Dentro de ellas, se encuentran: NS2/NS3, NS3/4A, NS4B, NS5A, NS5B.

Los genes NS2 y NS3 codifican dos proteasas que intervienen en el procesamiento de la región no estructural, mientras que el gen NS4A actúa como cofactor de la actividad de la enzima serin-proteasa NS3. NS5A da lugar a dos productos fosforilados (cuya función se desconoce) y la NS5B contiene el dominio que codifica la ARN-polimerasa, esencial para la replicación viral. (Figura 3)

Una vez unido el virus al receptor del hepatocito, pasa a su interior por un mecanismo de endocitosis con fusión de la membrana viral y la membrana celular. Posteriormente, se libera el ácido nucleico viral hacia el citoplasma del hepatocito donde tiene lugar la replicación.<sup>24,25</sup>

Figura 3. Genoma del Virus C



### 1.3 Variabilidad Genética y Genotipos

La heterogeneidad genética del VHC se ha descrito bajo los conceptos de: genotipos y cuasiespecies. Esta complejidad genómica es el resultado de la acumulación de mutaciones durante la replicación viral. Como otros virus ARN, el VHC no cuenta con enzimas responsables de corregir los posibles errores durante la replicación. Algunos estudios han estimado que esta tasa de errores se sitúa en  $10^3$ - $10^4$  sustituciones de base por lugar genómico por año. El genotipo hace referencia a la heterogeneidad genética existente entre los diferentes aislados

de VHC en áreas geográficas diversas. Las cuasiespecies son la traducción de la heterogeneidad genética en un determinado individuo.<sup>21</sup>

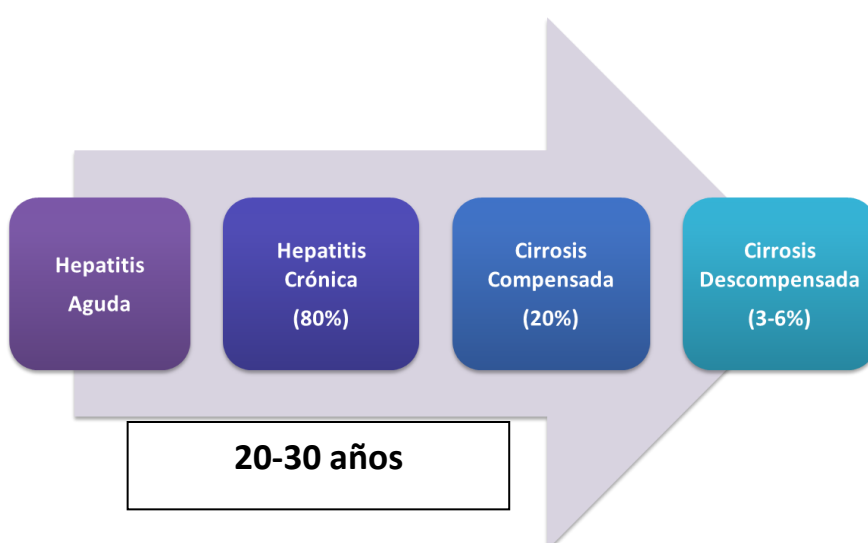
La variabilidad genética del virus, clasificada en diversos genotipos, subtipos y cuasiespecies, determina su distinta susceptibilidad a los pasados tratamientos con interferón y a los cada vez más numerosos agentes terapéuticos que existen en la actualidad.

Los genotipos 1, 2 y 3 se presentan prácticamente en cualquier región del mundo, mientras que el resto de genotipos se localizan en zonas geográficas más concretas. De todos ellos, el más frecuente en España y en el mundo es el genotipo 1.<sup>26</sup> En España el genotipo 1 tiene una prevalencia de más de 55,1 %, siendo el más habitual el subtipo 1b (69.8 %), seguido por el genotipo 3 (29 %), el genotipo 2 (8,9 %) y el genotipo 4 (5,8 %).<sup>2,27</sup> Por último, es importante resaltar que la identificación de los genotipos y subtipos del VHC no solo tiene interés epidemiológico, sino que determina el tipo y la duración de tratamiento antiviral a utilizar.

#### 1.4 Historia Natural

La evolución natural de la infección aguda o crónica por el VHC tiene una escasa e inespecífica expresividad clínica. El contagio agudo con el VHC produce inicialmente una hepatitis aguda que cursa de forma asintomática y anictérica en más del 75-90% de los casos, pudiendo evolucionar a una hepatitis crónica hasta en un 85% de los casos. De éstos que evolucionan a hepatitis crónica, aproximadamente un 20-30 % desarrollará cirrosis en el curso de 20-30 años. En aquellos que desarrollan cirrosis, aproximadamente un 3-6 % presentaran descompensación hepática y dentro de estas descompensaciones, en un 1-5% de las veces estará en relación con el Carcinoma Hepatocelular (CHC) (figura 4).

Figura 4. Historia natural de la infección del VHC



### **1.4.1 Hepatitis aguda**

Antes del año 1990 las poblaciones que estaban en riesgo de contraer hepatitis aguda C eran pacientes que recibían transfusiones de sangre, productos sanguíneos o inmunoglobulina anti D en el embarazo; antes de la detección sistemática de productos para el VHC, la población en riesgo eran los consumidores de drogas intravenosas y de cocaína intra-nasal, los pacientes con tatuajes o piercings corporales, trabajadores sanitarios, pacientes en diálisis y aquellos con prácticas sexuales de alto riesgo. Desde la introducción de la detección sistemática de productos sanguíneos y agujas de inyección estériles, los pacientes que se infectan ahora son diferentes. Actualmente la mayoría de los pacientes que se presentan como nuevos casos en los países desarrollados son las personas que se inyectan drogas y los hombres que tienen relaciones sexuales con hombres.

La hepatitis aguda suele ser asintomática y anictérica en el 70% de los casos; pero cuando aparecen síntomas suele presentarse con fiebre, ictericia, astenia, dolor abdominal y mialgias que por lo general suelen resolverse de forma espontánea en un periodo de 1-3 meses. En la analítica se puede observar que se manifiesta con elevación de las transaminasas por encima de 10 veces el valor normal. El diagnóstico se realiza con la determinación de ARN-VHC, ya que la aparición de anticuerpos anti-VHC ocurre alrededor de 5-6 semanas tras la exposición. El aclaramiento espontáneo del virus C ocurre aproximadamente en un 25% de los casos<sup>28</sup>, por lo general dentro de los primeros 6 meses desde el contagio, motivo por el que se recomienda una monitorización del ARN-VHC durante esos primeros meses para detectar aquellos pacientes que logren aclarar el virus.<sup>29</sup>

Existen ciertos factores relacionados con el aclaramiento espontáneo del virus. En varios estudios se observó que el sexo femenino, la edad  $\leq 35$  años, el estado inmune del huésped, la raza, IL28B CC y el genotipo 1 son factores independientes para el aclaramiento espontáneo del virus de la hepatitis C.<sup>28,29</sup> Se debe plantear tratamiento antiviral en aquellos pacientes que presenten menos de 3 factores favorables de resolución espontánea. El tratamiento debe ser con terapias libres de interferón al igual que en la hepatitis crónica; ya que las terapias basadas en interferón ya están obsoletas. Recientemente se ha demostrado que pautas cortas de tratamiento (4 o 6 semanas) con Sofosbuvir/Ledipasvir alcanzan tasas de curación del 100% en pacientes con hepatitis aguda C. En una cohorte de 14 pacientes con genotipo 1a (n=7) y genotipo 1b (n=7), se observó que tras recibir 4 semanas de tratamiento con esta combinación, todos los pacientes alcanzaron la RVS. A día de hoy no existen estrategias específicas de tratamiento en pacientes con genotipo diferente al 1, pero debido a las elevadas

tasas de RVS que presentan los antivirales de acción directa, se esperaría iguales tasas de eficacia.<sup>11</sup>

#### **1.4.2 Hepatitis crónica**

Ocurre hasta en un 80% de los pacientes infectados; se denomina hepatitis crónica a la presencia de carga viral positiva > 6 meses. Esta transición de hepatitis aguda a crónica suele ser subclínica, por lo que el diagnóstico se suele realizar de forma incidental. El curso asintomático tiene como consecuencia una progresión silenciosa y variable en términos de la enfermedad y de la fibrosis; que llevará a los pacientes al desarrollo de cirrosis y sus potenciales complicaciones como son: Hemorragia por varices esofágicas, ascitis, encefalopatía hepática y el carcinoma hepatocelular.

La hepatitis C es la principal causa de cirrosis, hepatocarcinoma y trasplante hepático en el mundo occidental.<sup>30</sup> Aunque con los nuevos antivirales muy probablemente dejará de ser la principal causa de trasplante hepático a nivel mundial.

Las muertes asociadas a la hepatitis C crónica son generalmente resultado de las complicaciones de la cirrosis descompensada y del carcinoma hepatocelular. Se estima que la tasa de supervivencia a 5 años para los pacientes con cirrosis compensada puede llegar hasta el 90 % en cambio en aquellos pacientes con cirrosis descompensada la tasa de supervivencia global es de solo el 50 %.<sup>31,32</sup>

La cirrosis hepática es un proceso difuso que se caracteriza por fibrosis tisular y cambios en la arquitectura hepática normal con la consiguiente formación de nódulos estructuralmente anormales. Las características morfológicas clave de la cirrosis incluyen: fibrosis difusa, nódulos regenerativos, arquitectura lobular y establecimiento de derivaciones vasculares intrahepáticas entre vena porta y arteria hepática. Los shunts vasculares son determinados por la topografía de los septos fibrosos vascularizados y representan una característica esencial de la cirrosis.<sup>33,34</sup> Otras características que también son muy relevantes son la capilarización de los sinusoides, la fibrosis perisinusoidal, la trombosis micro-vascular, las lesiones obliterativas en los tractos portales y las venas hepáticas, la sub-perfusión del parénquima hepático y la consiguiente hipoxia tisular.<sup>34</sup> En conjunto, estos cambios son responsables del desarrollo de hipertensión portal, sus complicaciones y de forma global es el causante de las muertes de los pacientes cirróticos.

Para que los pacientes lleguen a tener un estadio de cirrosis es imprescindible que ocurran ciertos procesos fisiopatológicos como son la fibrogénesis y la angiogénesis.

#### 1.4.2.1 Fibrogénesis:

El término fibrosis y cirrosis se utilizan de forma frecuente como sinónimos, lo que traduce confusión. En particular, esto ha surgido por la descripción de efectos favorables asociados a la terapia antiviral cuando una reducción significativa de la fibrosis se define a menudo como "regresión de la cirrosis".

La fibrosis tisular es la consecuencia de una reacción crónica de cicatrización de heridas que se produce en respuesta al daño y a la inflamación crónica en un contexto biológico caracterizado por un número limitado de respuestas. En otras palabras, la deposición de matriz extracelular (MEC) es la solución más simple, rápida y única y es, eventualmente, un proceso de "intención de tratar" destinado a preservar la continuidad del tejido.<sup>34</sup> Además, es importante resaltar que la cantidad detectable de fibrosis es el resultado neto del depósito continuo de nueva matriz extracelular (fibrogénesis) asociado con un intento continuo, pero obviamente no eficiente, de degradación y remodelación (fibrolisis). Aunque la fibrosis tisular es un elemento esencial en la transformación cirrótica del hígado, carece en sí de importantes efectos funcionales aunque sí clínicamente relevantes. El diferente patrón de desarrollo de la fibrosis en las diferentes enfermedades hepáticas crónicas puede tener diversas consecuencias sobre el desarrollo de la hipertensión portal.<sup>34</sup>

En general, la fibrosis que se desarrolla en las hepatitis víricas crónicas, compromete de forma temprana a la vena centrolobulillar con el consecuente establecimiento de derivaciones neovasculares entre el sistema portal y la circulación sistémica que conduce así a lo que se define como "Hipertensión Portal sinusoidal".<sup>34</sup>

#### 1.4.2.2 Angiogénesis

La formación de nuevos vasos es un mecanismo clave en la patogénesis de la enfermedad hepática crónica independientemente de su etiología.<sup>35</sup>

Desde un punto de vista mecánico, la angiogénesis en la enfermedad hepática crónica ocurre de acuerdo a dos vías principales. En primer lugar, el proceso de cicatrización crónica a nivel hepático se caracteriza por una sobreexpresión de varios factores de crecimiento, citoquinas y metaloproteinasas con una acción angiogénica inherente, en los que se incluye: Factor de crecimiento derivado de plaquetas, *transforming growth factor-b1 (TGF-b1)*, *fibroblast growth factor (FGF)* y el factor de crecimiento endotelial (VEGF) han demostrado que ejercen un potente papel pro-fibrogénico y pro-angiogénico en estos pacientes.<sup>34</sup> Segundo, la neoangiogénesis es estimulada en el tejido hepático por el aumento progresivo de la hipoxia tisular. Este mecanismo está estrictamente ligado a las modificaciones anatómicas tras el establecimiento de la fibrosis periportal, con una mayor contribución de la arteria hepática a la



formación de sangre sinusoidal. En consecuencia, el flujo sanguíneo sinusoidal se torna cada vez más arterializado con hepatocitos que se ajustan a una concentración de oxígeno anormalmente alta.<sup>34,35</sup> Posteriormente, la capilarización progresiva de las sinusoides conduce a un deterioro de la difusión del oxígeno desde los sinusoides hacia los hepatocitos con la consecuente regulación y activación de las vías pro-angiogénicas. En resumen, la hipoxia tisular promueve la angiogénesis y la fibrogénesis, y la fibrosis y la hipoxia se agravan mutuamente en presencia de una lesión parenquimatosa persistente.<sup>34,35</sup>

#### ***1.4.2.3 Hipertensión Portal***

La Hipertensión Portal (HP) es la consecuencia más temprana y con mayor relevancia clínica en los pacientes con cirrosis, ya que está en íntima relación con el desarrollo de complicaciones. La HP es el resultado de un aumento en la resistencia intrahepática combinada con un aumento en el flujo sanguíneo portal y arterial.<sup>34</sup> El aumento en la resistencia intrahepática está condicionado por alteraciones en la arquitectura hepática (como pueden ser la presencia de tejido fibroso, nódulos regenerativos), la disfunción endotelial que conlleva a una vasoconstricción intrahepática y a la formación de shunts entre las venas aferentes y eferentes hepáticas.<sup>34</sup>

Clínicamente, la medición del Gradiente de Presión Venoso Hepático (GPVH) nos proporciona una medición indirecta de la presión portal y es el mejor predictor de desarrollo de HP. El resultado de un GPVH de 3-5 mmhg se corresponde con ausencia de HP, de 6-9 mmhg con hipertensión portal clínicamente no significativa (HPCNS) y > 10 mmhg hipertensión portal clínicamente significativa (HPCS), por encima de este valor los pacientes se encuentran con mayor riesgo de desarrollar varices y/o descompensación hepática.

#### ***1.4.3 Cirrosis compensada y descompensada***

Desde el punto de vista clínico está bien establecido que un GPVH de 10-12 mmhg representa un umbral crítico en donde la enfermedad hepática se convierte en un trastorno sistémico que envuelve otros órganos y sistemas y en el que la presencia de complicaciones, claramente aumenta la morbimortalidad en estos pacientes.

En esta fase tan evolucionada de la enfermedad la presencia de shunts porto- sistémicos y circulación colateral extrahepática abre el camino a una carga antigénica derivada del intestino que es por tanto libre de entrar en la circulación sistémica desencadenando y manteniendo una activación constante y subclínica del sistema inmune innato con producción y liberación de moléculas vasoactivas, y óxido nítrico.<sup>34</sup> Estos mediadores juegan un papel importante en los trastornos hemodinámicos, produciendo por una parte reducción de la resistencia vascular periférica provocando de forma sinérgica una dilatación de los vasos esplácnicos que conlleva

a una hipovolemia central que en combinación con una presión sanguínea disminuida activa los baroreceptores que activarán el sistema nervioso simpático.<sup>34</sup>

Esta hipovolemia central que se produce, provoca una disminución del riego sanguíneo renal en combinación con los efectos de las catecolaminas circulantes y vasoconstrictores como la endotelina-1, activan el sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona (SRAA) que provocará retención de agua y sodio conformando así un círculo vicioso<sup>34</sup>. Este fallo progresivo, que incluye a una de las principales funciones del hígado como es la detoxificación conlleva a recibir bacterias desde la circulación esplácnica, siendo esto el principal determinante del desorden hemodinámico típico de la cirrosis descompensada.<sup>34</sup>

#### *1.4.3.1 Carcinoma Hepatocelular*

La cirrosis hepática representa la condición clínica *sine qua non* para el desarrollo del cáncer hepático. El Carcinoma Hepatocelular (CHC) aparece en aproximadamente el 80% de los pacientes cirróticos, convirtiéndose en el evento clínico que usualmente lleva a la muerte en estos pacientes.<sup>34</sup> Múltiples estudios demuestran que las tasas de RVS con o sin interferón disminuyen el riesgo de desarrollo de este cáncer.<sup>36,37</sup>

#### **1.4.4 Factores asociados con la progresión del virus de la hepatitis C.**

La mayor consecuencia que puede tener un paciente con infección crónica por el virus de la hepatitis C es la progresión de la enfermedad, ya que esto lo llevará al desarrollo de complicaciones como ya se ha mencionado anteriormente.

La fibrosis es una complicación deletérea que ocurre de forma variable en pacientes con inflamación crónica por el VHC. Está caracterizada por el depósito de matriz extracelular que conlleva a una distorsión de la arquitectura hepática con alteración en la microcirculación y funcionamiento de los hepatocitos.<sup>38</sup>

La historia natural de la hepatitis crónica C es muy variable y existen factores que afectan a la progresión de la enfermedad. Estos factores se pueden dividir en.<sup>39</sup>

- **Factores relacionados con el virus:** Dentro de estos se menciona a la carga viral, el genotipo y la presencia de cuasiespecies, aunque no hay evidencia de que la carga viral tenga un impacto en la progresión. El genotipo 3 si se ha relacionado con la progresión de la enfermedad hepática y además a la presencia de esteatosis hepática y de tener un papel oncogénico.<sup>40</sup>

- **Factores relacionados con el huésped:** Se dividen en factores modificables y no modificables:  
Factores modificables:

Alcohol: Diversos estudios muestran que el consumo de alcohol en cantidades superiores a los 50gr/día está relacionado con un riesgo de progresión de fibrosis y de desarrollo de CHC.<sup>41</sup>

Tabaco y Cannabis: Por si solo son un factor independiente que empeora la actividad histológica hepática y el desarrollo de hepatocarcinoma.<sup>42,43</sup>

Diabetes Mellitus y resistencia a la insulina: Ambas alteraciones están relacionadas con una mayor progresión y complicaciones de la enfermedad, aumento del riesgo de hepatocarcinoma, dificultan además la eficacia del tratamiento antiviral y además aumentan la mortalidad por causas cardiovasculares.<sup>44</sup>

Café: El consumo de café, al menos 3 tazas al día, está asociado con menor grado de inflamación hepática, menos fibrosis y reduce el riesgo de desarrollar hepatocarcinoma, ejerciendo un papel hepatoprotector.<sup>45</sup>

Factores no modificables:

Edad: Se ha demostrado en diferentes estudios que una edad a partir de los 50 años se relaciona con progresión de la fibrosis independientemente de la edad de al momento de la infección.<sup>46</sup>

Sexo: El sexo masculino se ha asociado a una peor evolución en la mayoría de estudios. Probablemente la razón de esto, es el efecto protector de los estrógenos en las mujeres.<sup>47</sup> Se ha comprobado que los estrógenos tienen efecto en inhibir la proliferación y activación de células estrelladas in vitro, por el mismo motivo los hombres tienen más tendencia también a desarrollar hepatocarcinoma.<sup>48</sup>

Raza: La raza blanca, especialmente los latinos, tienen mayor probabilidad de progresión de la enfermedad. Al contrario de lo que se pensaba en un primer momento, que la raza Afroamericana tenía más probabilidad de evolucionar a cirrosis, hepatocarcinoma y muerte, se vio que era por un menor acceso sanitario que la raza blanca.<sup>49</sup>

Coinfección VHB: Tener ambos virus está asociado con niveles mayores de ALT, mayor progresión de cirrosis y de hepatocarcinoma. La infección oculta por VHB no empeora la eficacia del tratamiento para VHC ni aumenta la progresión de la enfermedad pero, sin embargo, si aumenta el riesgo de hepatocarcinoma.<sup>50</sup>

Coinfección VIH: Al igual que ocurre con el VHB, tiene mayor progresión de la enfermedad y una progresión más rápida a cirrosis.<sup>51</sup>

Esteatosis hepática: Se ha visto que es un cofactor importante ya que incrementa la necroinflamación hepática y por lo tanto acelera la progresión de la fibrosis hepática.<sup>52</sup>

Factores genéticos: Se han identificado multitud de polimorfismos genéticos implicados en una progresión más rápida de fibrosis, cirrosis, CHC y en la respuesta inmune. Por ejemplo, los alelos HLA de clase II DRB\*0405 y DQB1\*0401se han asociado a una mayor progresión de la

enfermedad; ciertos polimorfismos en TGF- $\beta$ 1 y angiotensina II se han relacionado con fibrosis hepática en pacientes con VHC. La IL-10 también se ha asociado con estadios más avanzados de fibrosis y se ha visto como disminuyen sus niveles al alcanzar una RVS.<sup>53,54</sup>

## 2.0 DIAGNOSTICO

Como ya se ha mencionado anteriormente, la hepatitis crónica por VHC cursa de forma asintomática en la mayoría de los pacientes infectados, cerca de un tercio presenta una clínica muy variable e inespecífica lo que no hace sospechar el diagnóstico, por lo tanto, es frecuente diagnosticarla de manera casual en un análisis con alteración del perfil hepático.

Las pruebas de laboratorio disponibles para el diagnóstico de infección por el virus de la hepatitis C se pueden dividir en pruebas serológicas (detectan anticuerpos) y pruebas moleculares (identifican las partículas virales).

La prueba serológica más utilizada es el ensayo de inmuno-absorción ligado a enzimas (ELISA), permite detectar anticuerpos anti-VHC y se emplea fundamentalmente para el cribado poblacional, son fáciles de usar y el método está completamente automatizado. Estos métodos utilizan antígenos específicos del VHC obtenidos por ingeniería genética (recombinante). La lectura se realiza en un espectrofotómetro y los resultados se expresan en unidades de densidad óptica.<sup>55</sup>

Existen 3 generaciones de ELISA: Los de primera generación empleaban el péptido c100-3 de la región NS4 del genoma; tenían baja especificidad y detectaban de forma muy tardía los anticuerpos de VHC. Los de segunda generación incluían otros péptidos, tenían una mayor sensibilidad y especificidad que los de primera generación y acortaban el periodo de ventana serológica.<sup>55</sup> A partir del año 1996 se empiezan a utilizar los de tercera generación que incluyen epítomos de la región del core y de las regiones NS3, NS4 y NS5, con una sensibilidad de hasta el 99% en pacientes inmunocompetentes. Sin embargo, existen algunas situaciones en las que su utilidad se ve limitada: a) pueden ser falsamente negativos en pacientes inmunodeprimidos o en hemodiálisis, b) en la infección aguda no es posible realizar un diagnóstico precoz hasta 2-3 semanas del contagio, c) no tienen validez en el diagnóstico inmediato de la transmisión vertical ya que la transferencia pasiva de IgG anti-VHC de la madre al niño hace que el diagnóstico se retrase hasta al menos 1 año y d) la detección de anti-VHC no determina el estado de replicación viral.<sup>55,56</sup> Los anticuerpos anti-VHC pueden persistir en los pacientes con hepatitis aguda y crónica a pesar de haber logrado la curación virológica de forma espontánea o con tratamiento antiviral.

Las pruebas moleculares pueden realizar determinaciones del ARN viral de forma cualitativa (viremia) o cuantitativa (carga viral). También identifican el tipo de VHC. La técnica de reacción en cadena de la polimerasa permite la mayor sensibilidad. Las pruebas cualitativas son más sensibles que las cuantitativas, porque detectan cantidades muy pequeñas de ARN viral. Existen dos tipos de pruebas que identifican el tipo de VHC: a) pruebas de detección que identifican mutaciones puntuales en el genoma del VHC, y b) pruebas de confirmación que evalúan los segmentos más largos del virus.<sup>55,56</sup>

## **2.1 Técnicas cualitativas de detección de ARN-VHC**

Las pruebas que detectan la presencia de ARN-VHC se consideran el método de referencia en el diagnóstico de infección activa. La determinación del ARN-VHC cualitativo puede realizarse mediante técnicas de amplificación genómica utilizando la PCR clásica (Reacción en Cadena de Polimerasa), la PCR en tiempo real, o mediante técnicas de amplificación mediada por transcripción (TMA).<sup>57,58</sup>

Las pruebas cualitativas tienen una elevada sensibilidad pudiendo detectar menos de 50 UI/mL de ARN-VHC con igual sensibilidad para todos los genotipos.<sup>57</sup> El que más se ha utilizado ha sido el de Cobas Amplicor HCV v2.0 (Roche Molecular Systems), cuyo límite inferior de detección son 50 UI/mL. Últimamente se han desarrollado sistemas de amplificación basados en la PCR que combinan la reacción de amplificación con diferentes formatos de detección en un único proceso, denominado PCR en tiempo real. Esta técnica permite evaluar de forma dinámica el producto de amplificación generado (amplicones) en cada ciclo de amplificación.<sup>57,59</sup> Con la evolución de la PCR clásica, la terminología de cualitativa y cuantitativa se ha fusionado en un solo concepto, ya que la PCR en tiempo real es capaz de cuantificar el ARN-VHC. Estas pruebas son muy sensibles, con un límite bajo de detectabilidad de 10 UI/mL y límites dinámicos de hasta  $10^7$  UI/ML.<sup>57 59</sup>

El sistema de amplificación mediada por transcripción (TMA) se basa en amplificación de secuencias de ARN mediante la síntesis de ADN complementario y ARN empleando una mezcla enzimática compuesta por una transcriptasa reversa y una enzima con actividad ARN polimerasa.<sup>57</sup> El límite de detección es de 10 UI/mL

Estas técnicas cualitativas se emplean principalmente con fines diagnósticos: 1) diagnóstico precoz de la infección aguda, 2) diagnóstico precoz de la infección perinatal, 3) diagnóstico de la infección crónica en pacientes inmunodeprimidos con anti-VHC negativos, 4) diagnóstico de infección crónica por VHC, 5) diagnóstico de confirmación de resultados positivos débiles o indeterminados en las pruebas serológicas de cribado, y 6) valorar la respuesta al tratamiento antiviral.<sup>57</sup>

## 2.2 Técnicas de cuantificación del ARN-VHC

La cuantificación de la carga viral se utiliza para identificar a los pacientes que puedan ser menos susceptibles al tratamiento y para valorar la respuesta terapéutica. Como ya se ha mencionado antes el ARN-VHC puede ser cuantificado por técnicas de cuantificación genómica (PCR competitiva o PCR en tiempo real) o por técnicas de amplificación de señal mediante ADN ramificado.<sup>57,58,60</sup>

Hay 5 pruebas estandarizadas disponibles comercialmente y que se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1 . Diferentes técnicas de cuantificación del ARN-VHC

PRUEBA	METODO	RANGO DINAMICO DE CUANTIFICACION
<b><i>Amplicor HCV Monitor v2.0 (Roche Molecular Systems)</i></b>	<i>RT-PCR manual</i>	<i>600-5 x 10<sup>5</sup> UI/mL</i>
<b><i>Cobas® Amplicor hcv Monitor v2.0 (Roche Molecular Systems)</i></b>	<i>RT-PCR semiautomatizada</i>	<i>600-5 x 10<sup>5</sup> UI/mL</i>
<b><i>LCx HCV RNA Quantitative Assay (Abbott Diagnostic)</i></b>	<i>RT-PCR semiautomatizada</i>	<i>25-2,63 x 10<sup>6</sup> UI/mL</i>
<b><i>Versant HCV RNA 3.0 Quantitative Assay (Bayer HealthCare)</i></b>	<i>bDNA semiautomatizada</i>	<i>615-7,7 x 10<sup>6</sup> UI/mL</i>
<b><i>Cobas® Taqman HCV Test (Roche Molecular Systems)</i></b>	<i>PCR en tiempo real semiautomatizada</i>	<i>43-69 x 10<sup>6</sup> UI/mL</i>
<b><i>Abbott RealTime HCV Assay (Abbott Diagnostic)</i></b>	<i>PCR en tiempo real semiautomatizada</i>	<i>12-100 x 10<sup>6</sup> UI/mL</i>

Adaptado libro Hepatitis crónica C. Presente y futuro. R.J. Andrade, R. Moreno, R. Planas

## 2.3 Determinación serológica del genotipo del VHC (serotipo)

Existen 7 genotipos y más de 67 subtipos.<sup>26,61</sup> La determinación del genotipo posee un valor importante ya que determina el tratamiento antiviral, la duración y su respuesta, aunque actualmente con las nuevas terapias existentes con elevadas tasas de eficacia y con acción pangenotípica, probablemente en un futuro no sea necesaria su determinación. El genotipo del VHC puede establecerse mediante determinación de anticuerpos dirigidos a epítomos específicos mediante ELISA, mediante estudio de polimorfismo en la longitud de los fragmentos de restricción (RFLP) y mediante hibridación inversa en tiras de nitrocelulosa.<sup>62,63</sup> El mejor método para su determinación es la secuenciación directa de las regiones NS5B o E1 del genoma, seguido del alineamiento de secuencia con secuencias de referencia y análisis filogenético.<sup>62,63</sup> Aunque en la práctica clínica puede ser determinado mediante varias pruebas como son: 1) Análisis de secuenciación directa de la región 5'NC HCV Genotyping Kit, Bayer HealthCare, la más utilizada el INNO-LIPA HCV II (Immunogenetics) que se basa en la hibridación inversa de la PCR a tiras de nitrocelulosa preparadas con sondas de oligonucleótidos específicas de genotipo.<sup>62</sup>

Recientemente Touni y cols publicaron un artículo de como la detección de antígenos de HCV-E1/E2 por Dot-ELISA mostró una sensibilidad del 76,8%, una especificidad del 88% y una eficacia del 78,5%. Determinando que el ELISA y el Dot-ELISA basados en el anticuerpo monoclonal (7G9) son ensayos diagnósticos confiables, rápidos, fáciles y económicos para la infección por VHC. No se encontró correlación entre la carga viral sérica del VHC y la detección de antígenos E1/E2 del VHC. <sup>64</sup>

### 3.0 TRATAMIENTO DEL VIRUS DE LA HEPATITIS C

El VHC es la principal causa de cirrosis y carcinoma hepatocelular. <sup>27</sup> Todo paciente infectado con el VHC tiene indicación de tratamiento, ya que el objetivo principal es erradicar el virus y evitar así la progresión de la enfermedad hepática.

Durante casi 20 años la terapia estándar fue el tratamiento basado en interferón. Inicialmente interferón en monoterapia, seguido de interferón y Ribavirina (RBV) y posteriormente interferón-pegilado (INF-PEG) y RBV con tasas de respuesta viral sostenida en torno al 30-40%. Posteriormente, en el año 2011 se introducen por primera vez los primeros antivirales de acción directa de primera generación, los inhibidores de proteasa (IP): Boceprevir (BOC) y Telaprevir (TVR) en combinación con la terapia estándar (interferón pegilado y ribavirina) denominándose “triple terapia”, con tasas de RVS que oscilaban en torno al 70%, pero con un perfil de seguridad cuestionable. A partir de ese momento y tras los buenos resultados de esta combinación, en el año 2013 se conocen los inhibidores de proteasa de segunda generación y el inhibidor de polimerasa: Simeprevir y Sofosbuvir que en combinación con PEG-INF y RBV se obtuvieron tasas de RVS cercanas al 80-90%, permitiendo así acortar el tratamiento a 12-24 semanas; aun así con efectos secundarios atribuibles al uso de interferón.

De tal manera que surgen las terapias libres de interferón a partir del año 2014, teniendo un impacto positivo no solo en la eficacia sino también en el perfil de seguridad de los pacientes con tasas de RVS cercanas al 100%.

Terminología de tratamiento

**Respuesta viral sostenida (RVS):** Se define como un ARN-VHC indetectable en la semana 12 y 24 post tratamiento. <sup>37</sup>

**Respuesta virológica rápida (RVR):** ARN indetectable en semana 4 de tratamiento.

**Respuesta virológica rápida extendida (RVRe):** ARN negativo en semana 4 y que se mantiene indetectable en semana 12.

**Respuesta virológica precoz: (EVR: Early virological response o cEVR: complete):** ARN detectable en semana 4 pero indetectable en semana 12 de tratamiento y hasta el final del tratamiento.

**Respuesta virológica tardía (DVR: Delayed virological response o pEVR: partial-EVR):** Disminución de más de 2 log de la carga viral basal, pero detectable en semana 12, indetectable en semana 24 y hasta el final del tratamiento.

**Respuesta al final del tratamiento (RFT/EOT):** ARN indetectable al final de tratamiento.

Actualmente en práctica clínica, debido a la duración y a la eficacia de los tratamientos solo se emplean estos términos: Respuesta virológica rápida, Respuesta al final del tratamiento y la Respuesta viral sostenida.

En relación con la ausencia de respuesta:

**Recidiva virológica:** Consiste en la reaparición de ARN-VHC tras haber completado el tratamiento con carga viral indetectable.

**Respuesta parcial:** Es la disminución de más de 2 log de la carga viral basal en semana 12 pero sigue siendo detectable en semana 24 de tratamiento.

**Respuesta nula:** Disminución de menos de 2 log en la carga viral basal en semana 12 de tratamiento.

**Rebote virológico ó Breakthrough:** Reaparición de carga viral detectable durante el tratamiento tras haber sido indetectable o elevación de más de 1 log en relación a la carga viral más baja conseguida durante el tratamiento.

El alcanzar la RVS en pacientes con VHC implica un impacto en la erradicación del virus, mejoría en la histología hepática, mejoría en la calidad de vida de estos pacientes y sobre todo disminución del riesgo de progresión a fibrosis y desarrollo de Carcinoma hepatocelular.<sup>32,36</sup>

Según su evolución, el tratamiento antiviral a día de hoy se puede dividir en:

### **3.1. Tratamientos con interferón**

Dentro de estos el primero en emplearse fue el Interferón alfa-2b en monoterapia en el 1983 para el tratamiento en ese entonces de la llamada Hepatitis no A no B.<sup>65</sup> En 1989 tras el descubrimiento del VHC se empleó el interferón alfa en monoterapia 3 veces por semana, con pésimos resultados.<sup>66</sup> En el año 1991, tras varios estudios, el Interferón alfa en monoterapia fue aprobado para el tratamiento de la Hepatitis C con tasas de RVS en torno al 20%.<sup>67</sup> Debido a que la respuesta era subóptima se empezó a utilizar la RBV, inicialmente durante 12 semanas y luego durante 24 con mejoría en los niveles de transaminasas y disminución de la carga viral.<sup>68,69</sup> Tras probar diferentes dosis y duración, se estableció en el 1998 el tratamiento con



interferón en monoterapia 3 veces a la semana y ribavirina como la terapia estándar durante 48 semanas.<sup>70</sup> En el año 2004, se comparó el tratamiento con IFN y RBV vs Interferón-Pegilado (INF-PEG) y RBV; confirmándose que una duración de 48 semanas de tratamiento con PEG-INF y RBV fue superior en términos de RVS.<sup>71</sup> En el año 2011 se introducen los primeros antivirales de acción directa, los inhibidores de proteasa NS3/4A de primera generación: Boceprevir (BOC) y Telaprevir (TVR) en combinación con PEG-INF y RBV que marcaron un antes y un después en el tratamiento de la Hepatitis C, alcanzando por primera vez en pacientes con genotipo 1 tasas de RVS en torno al 70%, aunque significativamente más baja en cirróticos (10-50%) dependiendo del tipo de respuesta previa.<sup>72,73</sup>

En el año 2014 se comercializa Simeprevir, otro inhibidor de proteasa NS3/4a pero de segunda generación con alta barrera de resistencia en combinación con PEG y RBV en pacientes con genotipo 1 y 4 con tasas de RVS en torno al 80%, excepto en aquellos pacientes con genotipo 1a que tuvieran la mutación Q80K.<sup>74,75</sup> En ese mismo año también se comercializa Sofosbuvir (SOF) un inhibidor de polimerasa NS5B el primero con actividad pangenotípica, tiene alta barrera de resistencia y Daclatasvir (DCV) un inhibidor de polimerasa NS5A ambos en combinación con INF-PEG y RBV, el primero en pacientes con genotipo 1, 4, 5 y 6 y DCV en pacientes con genotipo 1, 2 y 3, con duraciones entre 12 y 24 semanas con tasas de RVS del 90% en pacientes seleccionados.<sup>74,76</sup>

A raíz de que cada vez más se obtenían mejores resultados en cuanto a eficacia y seguridad con estos tratamiento y que además muchos pacientes tenían contraindicación para recibir tratamiento con interferón, como eran los pacientes cirróticos compensados y descompensados, se probaron distintas combinaciones de antivirales de acción directa (AAD) con o sin RBV mostrando una gran potencia antiviral, alta barrera de resistencias, menores efectos secundarios y elevadas tasas de RVS en pacientes naïve, pre-tratados y cirróticos.

### **3.2. Tratamientos libres de interferón actualmente aprobados.**

Surgen tras los excelentes resultados de las distintas combinaciones de AAD tanto en ensayos clínicos como en práctica clínica real. Ejercen su acción sobre las distintas proteínas no estructurales del virus, impidiendo su replicación. Reciben diferentes nombres agrupándolos por clases o familias de fármacos. Identificamos tres familias disponibles: Inhibidores de la proteasa, Inhibidores de la polimerasa e Inhibidores de la proteína NS5A.

Desde agosto de 2014 hasta la actualidad diferentes fármacos antivirales de acción directa han sido autorizados y están disponibles para el tratamiento de la hepatitis C (Tabla 2)

**Inhibidores de proteasa NS3/4A:** Boceprevir, Telaprevir, Simeprevir, Paritaprevir, Grazoprevir

Este grupo de fármacos se une al sitio catalítico de la enzima y bloquea el procesamiento postraduccional de la poliproteína viral en los sitios de escisión NS3/NS4A, NS4A/NS4B, NS4B/NS5A y NS5A/NS5B, evitando la liberación de proteínas no estructurales funcionales.<sup>77</sup>

Existen 3 generaciones:

**Primera generación:** Boceprevir y Telaprevir. Obtenidos en el año 2011 combinados con peg-IFN y RBV, activos contra genotipo 1, se administraban cada 8 ó 12 horas, baja barrera a la resistencia, con importantes efectos secundarios como erupción cutánea, prurito, anemia e infecciones. Su uso en la actualidad no está recomendado.<sup>78,79</sup>

**Segunda generación:** Simeprevir. Aprobado por primera vez en el 2014, activo contra genotipo 1 y 4, posología de una vez al día (OLYSIO® 150 mg). Al ser una molécula mejorada presenta menos efectos secundarios que los de primera generación. Su uso está contraindicado en pacientes con Child-Pugh B y C. Debido a la aparición de nuevas moléculas con mejor perfil de eficacia y seguridad, su uso hasta hace poco quedó relegado a tratamiento de rescate en pacientes con fallo a otros AAD.<sup>80-82</sup>

**Tercera generación:** Paritaprevir, Aprobado en enero 2015. (VIEKIRAX®) Inhibidor de la proteasa potenciado con ritonavir, co-formulado con un inhibidor de la NS5A (Ombitasvir) y un inhibidor de la polimerasa NS5B no nucleósido (Dasabuvir). Activo contra genotipo 1 y 4. Los estudios de registro (SAPPHIRRE I, SAPPHIRRE II, PEARL II, III, IV y TURQUOISE II) mostraron elevadas tasas de RVS en población cirrótica compensada y no cirrótica (90%).<sup>83-85</sup>

Grazoprevir: Aprobado en España en 2017. Pangenotípico, co-formulado con un inhibidor de la NS5A (Elbasvir) (ZEPATIER®), han sido autorizado para su uso en genotipo 1 y 4, cirróticos compensados y no cirróticos, se administra un solo comprimido al día durante 12-16 semanas. Las tasas de RVS en los estudios de registro fueron en genotipo 1a (94,9%-100%), en genotipo 1b (99-100%) y genotipo 4 (94-100%).<sup>86-90</sup>

#### **Próximos NS3/4A**

Voxilaprevir: Actualmente en estudio. Los estudios POLARIS-1 y POLARIS-4 han mostrado elevadas tasas de RVS cuando se combina con Sofosbuvir-velpatasvir durante 12 semanas en pacientes con fallo previo a un régimen de AAD.<sup>91-93</sup>

**Inhibidores del NS5A:** Daclatasvir, Ledipasvir, Ombitasvir, Elbasvir, Velpatasvir

**Primera generación:** Daclatasvir: Aprobado en agosto de 2014, (DAKLINZA® 60 mg una vez al día) fue el primer inhibidor de NS5A. Aprobado en combinación con SOF para el tratamiento de pacientes con genotipo 1, 2, 3 y 4. Se emplea en Japón en combinación con Asunaprevir con tasas de curación de 82-90% en pacientes con genotipo 1b. Actualmente se está llevando a

cabo un estudio de fase III para investigar una terapia triple con DCV y ASV en combinación con el inhibidor no estructural de la polimerasa BMS-791325 (BECLABUVIR®) para pacientes con genotipo 1.<sup>94-96</sup>

Ledipasvir: Aprobado en Noviembre 2014. Activo contra genotipo 1,3 y 4. Co-formulado con Sofosbuvir en un solo comprimido (HARVONI®, 90/400 mg una vez al día) que se administra durante 8,12 o 24 semanas dependiente del perfil del paciente, con tasas de curación del 94-99%.<sup>97</sup>

**Segunda generación:** Ombitasvir: Aprobado Enero 2015. Se emplea como parte del tratamiento con paritaprevir potenciado con ritonavir y Dasabuvir. Cada comprimido de VIEKIRAX® está compuesto por ombitasvir (12,5 mg), paritaprevir (75 mg) y ritonavir (50 mg). La dosis recomendada es de 2 comprimidos, una vez al día. Activo contra genotipo 1 y 4. Se han registrado elevadas tasas de RVS.<sup>83,84,98</sup>

Elbasvir: Aprobado en España en 2017. Pangenotípico, Es un inhibidor de la proteína NS5A, la cual es fundamental para la replicación del VHC. Co-formulado con un inhibidor de la NS5A Grazoprevir (ZEPATIER®) ha sido autorizado para su uso en genotipo 1 y 4, se administra un solo comprimido al día durante 12-16 semanas. Las tasas de RVS en los estudios de registro fueron en genotipo 1a (94,9%-100%), en genotipo 1b (99-100%) y genotipo 4 (94-100%). Los estudios son los mismos que Grazoprevir.

Velpatasvir: Aprobado en 2017. Pangenotípico. Es un inhibidor del transportador de fármacos gpP, de la proteína de resistencia de cáncer de mama (PRCM) del polipéptido transportador de aniones orgánicos (PTAO) 1B1 y PTAO1B3. Se administra co-formulado con Sofosbuvir (EPCLUSA®) un comprimido al día durante 12 semanas en pacientes con genotipo 2 y 3 con tasas de RVS del 99%.<sup>99-101</sup>

#### **Inhibidor nucleosídico de la polimerasa:**

Sofosbuvir: Aprobado en enero 2014. Pangenotípico. Es el único inhibidor de nucleótidos aprobado (SOVALDI®400 mg/día). Las terapias basadas en SOF libres de IFN en genotipo 1, 2, 3, 4 deben incluir siempre una combinación con otros DAA.

Tabla 2 . Antivirales de acción directa autorizados en España (última revisión marzo 2017)

Mecanismo de acción	Fármaco	Genotipo
<b>Inhibidores de la proteasa NS3/4A</b>	Boceprevir*	1
	Telaprevir*	
	Simeprevir	1 y 4, variable en el resto
	Paritaprevir	
	Grazoprevir	Pangenotípico
<b>Inhibidores de la NS5A</b>	Daclastavir	1 y 3, variable en el resto
	Ledipasvir	1, 5, 6
	Ombitasvir	1 y 4
	Elbasvir	Pangenotípico
	Velpatasvir**	Pangenotípico
<b>Inhibidores de la polimerasa NS5B</b>		
<b>Análogos no nucleos(t)idos</b>	Sofosbuvir	Pangenotípico
<b>No Análogos no nucleos(t)idos</b>	Dasabuvir	1

#### 4.0 FIBROSIS Y VIRUS C

##### 4.1 Mecanismo de la fibrosis hepática en la hepatitis crónica

La fibrosis hepática es una de las principales consecuencias que se producen por la necro-inflamación provocada por las hepatopatías crónicas independientemente de su etiología. Suele ocurrir por una activación de las células estrelladas quiescentes que son las responsables de la formación de fibras de colágeno. Esta sobreproducción de fibras colágenas se ha visto que está mucho más acentuada en algunas hepatopatías que en otras, como por ejemplo la ocasionada por el virus de la hepatitis C.

Las diferentes moléculas de la matriz extracelular que se activan en este proceso inflamatorio de manera continua, son las mismas independientemente de la etiología y del órgano afectado, es decir el mecanismo celular de la fibrogénesis es el mismo tanto a nivel hepático como a nivel pulmonar, renal etc.<sup>102</sup>

Solo un 15-20% de los pacientes con hepatitis aguda C logran aclarar el virus de manera espontánea, lo que supone un 80% de estos pasaran a un estado de hepatitis que abarcará diferentes grados de fibrosis con sus consecuente repercusión clínica. Por lo tanto, establecer el grado de fibrosis en pacientes con enfermedad hepática, en especial, aquellos infectados por el virus de la hepatitis C, es de vital importancia ya que permite establecer el riesgo que tienen estos pacientes de desarrollar complicaciones.

Antes se establecía que la cirrosis era un estadio irreversible; actualmente existen múltiples estudios que confirman lo contrario, tratándose de un proceso dinámico, en el que interfieren

diversos factores tanto favorables como desfavorables para la progresión o no de la fibrosis hepática.<sup>103</sup>

Existe un punto en el cual la fibrosis progresa y se hace realmente irreversible, pero aún se desconoce a partir de qué momento esto sucede. En diversos estudios se ha visto que la velocidad de progresión de la fibrosis es muy variable en cada individuo y que puede estar influenciada por factores, que pueden ser inherentes o propios del paciente y/o modificables o adquiridos. Se ha visto que la progresión de la fibrosis sigue una distribución asimétrica diferenciándose al menos tres patrones de progresión: rápida, intermedia y lenta y cuatro periodos sucesivos para cada estadio de fibrosis desde la infección (Fibrosis 1, 2, 3 y 4).<sup>104</sup>

#### ***4.1.1 Mecanismo celular y molecular de la fibrosis hepática.***

La fibrosis hepática es una respuesta cicatricial reversible a la inflamación continua que sufre el hepatocito; ocurre por un depósito progresivo de colágeno y otras proteínas de la matriz extracelular en el parénquima hepático que precede a cualquier proceso de hepatitis aguda o crónica. Su estado final es la cirrosis y se caracteriza por la presencia de septos o tabiques que rodea a nódulos de hepatocitos.<sup>105</sup>

En la hepatitis C, la fibrosis debuta alrededor de los espacios porta (fibrosis periportal) y se extiende hacia los espacios vecinos y las venas centrolobulillares formando septos y puentes fibrosos.<sup>104</sup>

Las células estrelladas del hígado (CEH) normalmente se encuentran en estado quiescentes y su papel fundamental es regular la homeostasis de los retinoides y la remodelación de la matriz extracelular. Una vez activadas se asemejan a los miofibroblastos adquiriendo capacidad proliferativa, fibrogénica y contráctil, convirtiéndolas en pieza clave para la modulación de la fibrosis.<sup>102</sup>

#### ***4.1.2 Bases Biológicas de la Fibrosis Hepática***

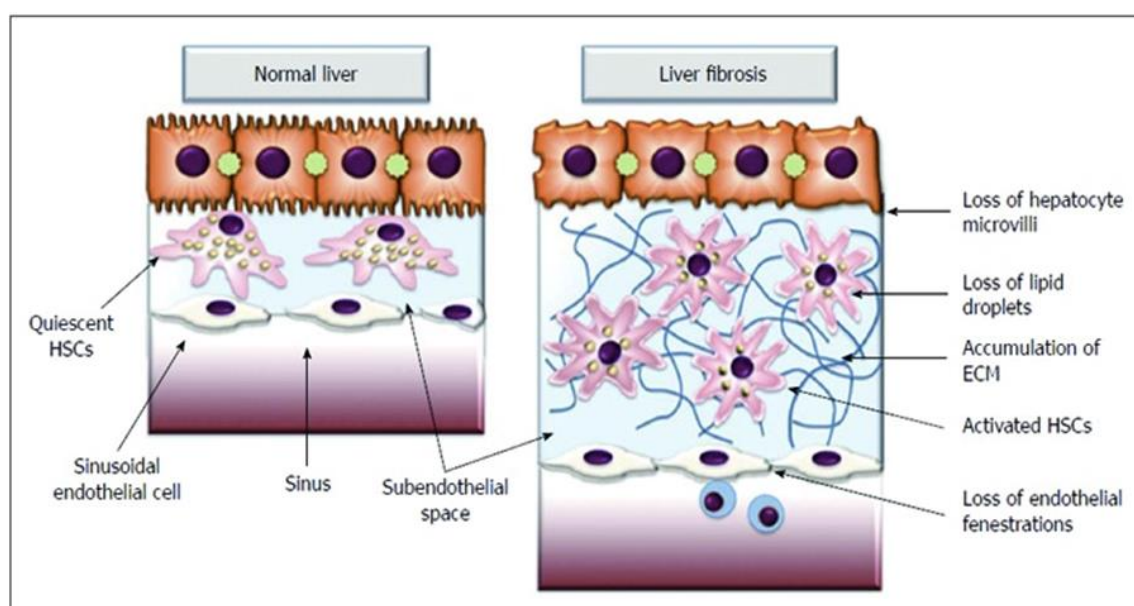
##### **Matriz extracelular**

La matriz extracelular (MEC) constituye un grupo de macromoléculas que se encargan de crear el “armazón” del hígado normal y del hígado fibrótico. Está constituida por diferentes moléculas estructurales y de soporte, como son: Colágenos, glucoproteínas distintas del colágeno, factores de crecimiento relacionados con la matriz, glucosaminoglucanos, proteoglucanos y proteínas matricelulares.<sup>106</sup> En el hígado normal, los denominados colágenos formadores de fibrillas (I, III, V y XI) existen principalmente en la capsula, alrededor de los vasos de gran calibre y en la triada portal; de modo que en el espacio sub-endotelial solo hay fibrillas dispersas que contienen colágeno tipo I y III, glicoproteínas y proteoglicanos, que son

esenciales para mantener los diferentes funcionamientos de las diferentes células que allí se encuentran.

Sin embargo, cuando el hígado se torna fibrótico estas fibras de colágeno aumentan en cantidad (3-10 veces), sin modificar su estructura ni secuencia. Esto provoca un aumento importante de la matriz intersticial dando lugar a capilarización del espacio de Disse, activación de las células estrelladas, pérdida de las microvellosidades hepatocitarias, alteración directa de la función de los hepatocitos y desaparición de las fenestraciones endoteliales.(Figura 5). La sustitución de la matriz normal de baja densidad por una matriz intersticial de alta densidad, altera directamente la función de los hepatocitos y esto puede explicar la disfunción sintética y metabólica que se observa en los cuadros más avanzados de fibrosis y cirrosis.<sup>102</sup>

Figura 5. Patogénesis de la fibrosis hepática



Fuente: Cellular and molecular mechanisms in the pathogenesis of liver fibrosis: an update

#### 4.1.3 Degradación de la matriz extracelular

Para que la fibrosis hepática se ponga de manifiesto es imprescindible la degradación de la matriz extracelular. Y esto ocurre básicamente ante dos circunstancias: 1) cuando hay alteración de las proteasas de la misma matriz y 2) en los pacientes que ya presentan una hepatopatía crónica con fibrosis en donde existe un estado de “degradación” o “remodelación” terapéutica hacia esa matriz extracelular normal que ha sido sustituida. En

resumen, la fibrosis representa un equilibrio entre la producción y la degradación de la matriz extracelular.

## **4.2 FISIOPATOGENIA DE LA FIBROSIS HEPATICA**

### **4.2.1 Activación de las células estrelladas**

Cuando el hígado normal se somete a un proceso de lesión continua y crónica independientemente de su etiología se produce a nivel celular un proceso llamado “activación”.

Este proceso de activación se aprecia básicamente en las células estrelladas y en otros tipos celulares productoras de MEC. Este proceso patológico en las CEH se caracteriza por pérdida de las gotitas de grasa del citoplasma, provoca aumento del número y tamaño celular así como también diferenciación fenotípica a células proliferativas, fibrogénicas y contráctiles que asemejan mucho a los fibroblastos.<sup>107</sup> (Figura 6)

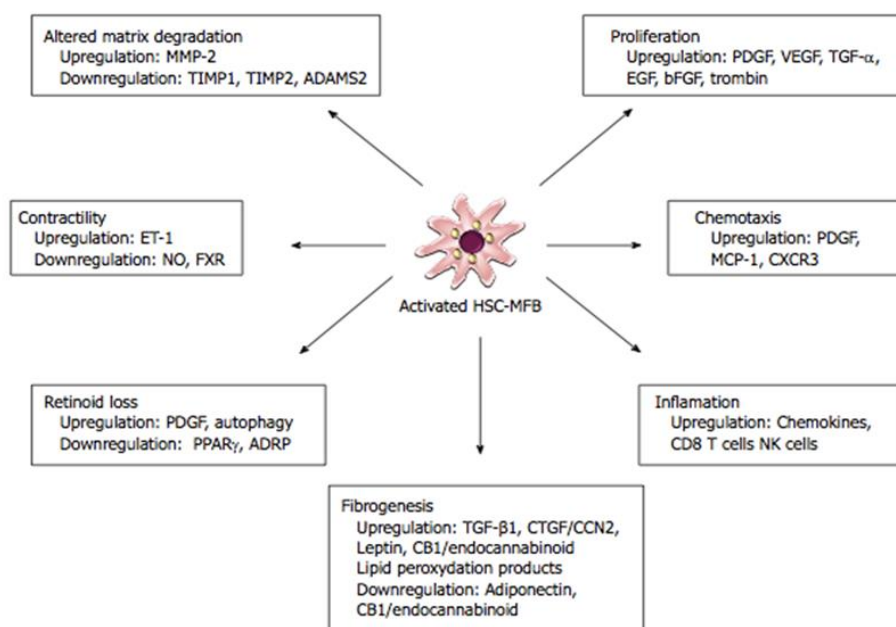
Estas modificaciones fenotípicas en la CEH activadas se mantienen por medio de una compleja señalización intercelular autocrina y paracrina. El inicio del proceso de la activación de las CEH se produce por:

- 1) El impacto de la lesión de las células parenquimatosas o las células del tracto biliar sobre la homeostasis tisular.
- 2) Los efectos de los estímulos citocínicos provenientes de células inflamatorias como de células vecinas
- 3) Modificaciones en la composición de la matriz extracelular que son percibidas por los receptores (integrinas) de las CEH.

Esta activación celular patológica se caracteriza por dos fases:

- Iniciación: También denominada fase pre-inflamatoria. Representa las modificaciones iniciales que tienen que ver con la expresión genética y en el fenotipo que hacen que las células respondan frente a otras citoquinas y otros estímulos. En esta fase existe estimulación paracrina.
- Perpetuación: Representa los efectos ocasionados por estos estímulos para así mantener el fenotipo activo y para la aparición de la fibrosis. Esta fase está relacionada con mecanismos autocrinos y paracrinos.<sup>102</sup>

Figura 6. Repercusión de los cambios fenotípicos de las células estrelladas activadas en la fibrosis hepática.



#### 4.2.2 Capilarización de los sinusoides

Durante el proceso fibrogénico, el sistema microvascular hepático se modifica: de un sistema sinusoidal de capilares discontinuos, pasa a ser un sistema de capilares continuos; es lo que recibe el nombre de “capilarización”.

Hay un aumento de la producción de colágeno tipo IV, laminina y entactina que se depositan en el espacio de Disse, donde forman una membrana basal verdadera. Las observaciones al microscopio electrónico revelan una importante disminución de las fenestraciones endoteliales tanto en número como en tamaño (defenestración) y la formación clara de una membrana basal verdadera de ubicación sub-endotelial.<sup>107</sup>

Algunos autores sugieren que existe otra etapa que le sigue (precede) a la capilarización. Esta etapa se denomina “venulización”, que se define como la transformación de los sinusoides en vénulas mediante el aumento de su diámetro, la pérdida de las fenestraciones y la formación de una membrana basal subyacente.<sup>107</sup>



Como normalmente muchas funciones hepáticas dependen del intercambio rápido y bidireccional de macromoléculas entre el plasma y los hepatocitos, la capilarización altera la difusión y la filtración de sustancias bio-activas entre estos 2 compartimentos.

#### *Contracción de las células estrelladas del hígado y regulación del flujo sanguíneo sinusoidal*

Las CEH presentan características morfológicas, ultra estructurales y funcionales similares a los pericitos, que participan en la regulación del flujo sanguíneo microvascular en diversos órganos. Las CEH extienden a partir de sus cuerpos celulares varias prolongaciones primarias de 20 µm de longitud que corren a lo largo de uno o más sinusoides. De estas prolongaciones primarias surgen perpendicularmente prolongaciones secundarias, que tienden a rodear los sinusoides de forma circular. Se ha demostrado in vitro que la contracción y relajación de las CEH se produce efectivamente en respuesta a diversos mediadores vasoactivos como las endotelinas, la angiotensina II, el óxido nítrico (ON) y el péptido natriurético arterial, entre otros.<sup>107</sup>

A pesar de estos datos, no existen evidencias claras de la participación de las CEH en el control de la perfusión del hígado en condiciones fisiológicas. Sin embargo, cuando hay fibrosis hepática, parece que las CEH influyen de manera activa en el manejo del flujo sanguíneo sinusoidal y por lo tanto, en la fisiopatología de la hipertensión portal.

### **4.3. Marcadores Directos e Indirectos de Fibrosis Hepática**

Hasta hace unos años solo se disponía de la biopsia hepática como método diagnóstico para establecer el grado de fibrosis y pronóstico en los pacientes. Al ser la biopsia hepática un procedimiento invasivo que no está exento de complicaciones, se propusieron varios algoritmos de fibrosis que combinan diferentes pruebas para mejorar la precisión del diagnóstico no invasivo de fibrosis hepática en pacientes con hepatitis crónica por virus C. Actualmente se dispone de una serie de marcadores no invasivos, serológicos y no serológicos que son capaces de identificar estadios de fibrosis temprana y tardía, ayudando al facultativo a identificar aquellos pacientes con mayor riesgo de complicaciones.

Se han desarrollado nuevas técnicas como la Elastografía de Transición o Fibroscan®, ecoelastografía basada en radiación acústica con fuerza de impulso (ARFI) y la elastografía por resonancia magnética, estos dos últimos métodos no invasivos son los más novedosos y han venido a ser una alternativa para la medición de fibrosis hepática al ya establecido y validado Fibroscan®.

### **4.4. Métodos no invasivos de fibrosis**

#### 4.4.1. Métodos Serológicos Indirectos

Un gran número de marcadores serológicos han sido creados a través de los años para la valoración o evaluación de la fibrosis hepática, dentro de los que se incluyen: los niveles de transaminasas, la presencia de coagulopatía, el conteo de plaquetas etc., logrando que se establezcan diversos índices de puntuación con la combinación de los mismos.

La mayoría de los estudios de marcadores indirectos se han concentrado en el diagnóstico de cirrosis, pero estudios más recientes han demostrado que además son útiles en estadios tempranos de fibrosis.<sup>103</sup>

##### Cociente AST/ALT

El cociente AST/ALT no ha demostrado ser clínicamente útil para el estadiaje de fibrosis, si se ha visto que valores  $>1$  están más en relación para el diagnóstico no invasivo de cirrosis en pacientes con hepatopatía alcohólica.<sup>103</sup>

##### Recuento de plaquetas

La fibrosis hepática conlleva a trombocitopenia como consecuencia de un deterioro en la síntesis de trombopoetina y/o por el secuestro plaquetario a nivel del bazo. Existe algún dato sobre el valor diagnóstico del conteo de plaquetas en los scores de fibrosis. Ono y cols reportaron como el recuento plaquetario podía discriminar una fibrosis F4 de una fibrosis F1-F3 en un 75%-80% de los pacientes con hepatopatía crónica por virus C.<sup>108</sup> En otro estudio realizado por Lackner y cols se vio que un recuento plaquetario  $< 150 \times 10^9/L$  tenía un valor predictivo positivo (PPV) de más de un 90% de fibrosis significativa, mientras que un valor  $> 150$  tenía un valor predictivo negativo (NPV)  $> 90\%$  para cirrosis.<sup>109</sup>

El recuento plaquetario también se ha combinado con la edad en el índice edad-plaquetas o en el AST/ALT ratio y tiempo de protrombina en la puntuación discriminante de cirrosis (CDS), pero la puntuación de estos scores no fue superior al recuento de plaquetas *per se*.<sup>110</sup> De todas formas las plaquetas son un componente de otros scores de fibrosis con mayor validez como es el APRI, índice de Forns, modelo 3, Fibrometer etc.

##### Índice de relación AST/plaquetas (APRI)

El APRI fue descrito por Wai y colaboradores del grupo de Ann Arbor University.<sup>110</sup> Se calcula de la siguiente manera:  $APRI = (AST/\text{límite alto de la normalidad}) \times 100 / \text{recuento de plaquetas}$ . Es un índice muy sencillo que se puede realizar con analítica de rutina. Este índice puede diferenciar de manera importante a los pacientes que tienen o no una fibrosis significativa o cirrosis. Los estudios que se han enfocado en este índice, lo han evaluado

expresamente en pacientes con hepatitis crónica por virus C, pacientes coinfectados VHC/HIV y en hepatopatía alcohólica.

Uno de los primeros estudios publicados acerca del APRI, lo hicieron Wai CT y cols; estos analizaron de manera retrospectiva dicho índice y encontraron que el APRI era el test más sencillo y preciso para la detección de fibrosis significativa o cirrosis. El área bajo la curva (AUROC) fue de 0.88 para fibrosis significativa y 0.94 para cirrosis.<sup>111</sup>

Subsecuentes estudios han reportado una variabilidad en la interpretación de este índice. Un metaanálisis de 22 estudios, en el cual se incluyeron predominantemente pacientes con virus C, hicieron una serie de observaciones. Para un umbral APRI de 0.5, la sensibilidad y especificidad para fibrosis significativa fue de 81% y 50% respectivamente. Para un umbral de 1.0, la sensibilidad y especificidad para predecir cirrosis fue de 76% y 71% respectivamente, concluyendo los autores de este metaanálisis que el APRI es una herramienta más útil para excluir fibrosis significativa que cirrosis en paciente con hepatitis crónica C.<sup>112</sup>

### **Índice de Forns**

Está basado en 4 variables clínicas: Edad, recuento de plaquetas, niveles de colesterol y GGT. Forns y cols elaboraron un modelo en el que se incluyeron 476 pacientes. El estudio se limitó a pacientes con Hepatitis crónica C y estos fueron incluidos en una cohorte de prueba (N=351) y una cohorte de validación (N=125). La cohorte de validación se utilizó para definir los umbrales en los individuos con una alta o baja probabilidad de tener fibrosis significativa. El punto de corte (cut-off) tuvo un valor predictivo positivo de un 66%, lo que permite excluir con gran precisión a los pacientes con escasa o fibrosis nula, siendo menos útil para la identificación de fibrosis avanzada.<sup>113</sup>

### **Hepascore**

Este índice combina: edad, sexo, bilirrubina, GGT, ácido hialurónico y alfa2macroglobulina. Una de las ventajas de este índice sobre el Forns es que añade un marcador directo de fibrosis como es el ácido hialurónico. En un estudio se comparó este índice con el APRI y el Forns y se observó que en 104 pacientes con hepatitis crónica C el área bajo la curva fue de 0,82, 0,90 y 0,89 para fibrosis significativa, fibrosis avanzada y cirrosis respectivamente.<sup>103</sup>

### **FIB-4**

El FIB-4 combina las variables bioquímicas de recuento plaquetario, AST y ALT con la edad. En dos estudios realizados por Vallet-Picahrd y cols y Sterling y cols, se evidencio que tenía buena precisión para predecir fibrosis avanzada en pacientes con hepatitis crónica C.<sup>114</sup>

### **Fibrotest/Fibrosure**

Investigadores franceses analizaron una amplia gama de pruebas bioquímicas en 339 pacientes con hepatitis crónica C e identificaron un panel de 5 marcadores que mejor podrían predecir el estadio de la fibrosis:  $\alpha$ 2-macroglobulina, haptoglobina, apolipoproteína A1, GGT y bilirrubina total.

Esta prueba se ha comercializado como Fibrotest en Europa y como Fibrosure en Estados Unidos. En contraste con las pruebas de fibrosis indirectas mencionadas anteriormente, el cálculo del Fibrotest por un algoritmo patentado está sujeto al pago de una tasa al fabricante. El Fibrotest ha sido validado internamente y externamente en varios estudios en pacientes con hepatitis crónica C. También sirve para predecir la fibrosis en pacientes con hepatopatía alcohólica y en enfermedad hepática grasa no alcohólica. La exactitud diagnóstica de esta prueba está limitada por la presencia de hemolisis, el síndrome de Gilbert y la infección reciente o en curso.<sup>110</sup>

#### **4.4.2 Métodos Serológicos directos**

##### **Ácido Hialurónico (AH)**

El AH es glucosaminoglucano sintetizado por las células estrelladas y degradado por las células sinusoidales hepáticas, es además un componente de la matriz extracelular. Niveles elevados de AH en pacientes con enfermedad hepática, particularmente cirrosis, se han correlacionado con disfunción de las células endoteliales sinusoidales y probablemente refleja un aumento en la fibrogénesis. Estudios han demostrado que los niveles de AH se correlacionan con el grado de fibrosis hepática en pacientes con hepatitis crónica C. En hepatitis alcohólica se correlaciona con el grado de fibrosis y la severidad de la inflamación. Está incluido en el índice SHASTA, Hepascore y FibroSpect.<sup>103</sup>

##### **PIIINP**

Es probablemente el marcador de fibrosis hepático más estudiado. Sus niveles se elevan en la hepatitis aguda y se correlaciona con los niveles de transaminasas. Los niveles séricos reflejan el grado de fibrosis en la hepatitis alcohólica, hepatitis virales y cirrosis biliar primaria. Disminución o normalización se ha observado en pacientes abstinentes enólicos.<sup>103</sup>

##### **Citoquinas**

El Transforming growth factor (TGF)- $\beta$  es un estímulo importante para la producción de matriz extracelular por las células estrelladas hepáticas. En un estudio con 88 pacientes con hepatitis crónica C hubo una correlación entre los niveles de (TGF)- $\beta$  y la severidad de la fibrosis. El Factor de Necrosis Tumoral  $\alpha$  también se ha asociado al daño hepático en pacientes con hepatitis alcohólica. Otro también estudiado es el Factor de crecimiento derivado de

plaquetas, está regulado después de la lesión hepática y los niveles pueden correlacionarse con el grado de lesión hepática.<sup>103</sup>

#### **4.4.3. Métodos Físicos**

El pronóstico y manejo de las hepatopatías crónicas depende de la extensión y progresión de la fibrosis hepática. Es por ello que existía la necesidad de tener herramientas no invasivas que pudieran medir de forma precisa el grado de fibrosis hepática de una forma específica, sencilla, reproducible y que además proporcionara información de la progresión y eficacia del tratamiento. En ese sentido los últimos avances tecnológicos para la medición de la fibrosis hepática han sido mediante elastografía de transición.

#### **Elastografía de Transición**

La Elastografía de transición (FibroScan®, Echosens, Paris, France) es una novedosa técnica rápida y no invasiva que mide la rigidez hepática. El principio básico de esta técnica consiste en que la velocidad de propagación de una onda a través de un tejido homogéneo es proporcional a su elasticidad (dureza). La elasticidad se ha demostrado que se correlaciona con la cantidad de fibrosis a nivel hepático.<sup>115</sup>

Este sistema está equipado con una sonda que consiste en un transductor ultrasónico montado sobre el eje de un vibrador. Vibraciones de amplitud media y baja frecuencia (50 Hz) son transmitidas hacia el transductor. Es un método indoloro, rápido y de fácil realización. Para su ejecución, el paciente debe estar en ayunas, en posición decúbito supino con el brazo derecho colocado detrás de la cabeza para facilitar el acceso al cuadrante superior derecho. La sonda se coloca entre dos costillas en posición intercostal en el lóbulo hepático derecho. Para cada medición, el operador tiene que presionar un botón. Después de cada disparo, una vibración de amplitud suave y de baja frecuencia se transmite desde el vibrador al tejido por el propio traductor. Esta vibración induce una onda de cizallamiento elástica que se propaga a través del tejido, y su velocidad está directamente relacionada con la rigidez tisular. A mayor dureza del tejido mayor rapidez de propagación de la onda. El software determina si cada medida es adecuada o no, si no es adecuada no se realiza ninguna lectura. Los resultados se expresan en kilopascales (kPa) y su resultado final se corresponde con la media de 10 mediciones válidas. Los valores de la rigidez hepática varían desde un rango de 2,5-75 kPa.<sup>116,117</sup>

### *Interpretación de los resultados*

La interpretación de los resultados está disponible de forma inmediata y esta técnica es operador independiente. La validez de los resultados depende de dos parámetros importantes: El rango intercuartílico (IQR) refleja la variabilidad de las medidas y no debe superar el 30% del valor de la media. Y la tasa de éxito, que se corresponde con el número de medidas adquiridas de forma exitosa, debe ser al menos del 60%.

La interpretación de los resultados debe ser realizada siempre por un clínico experto y debe hacerse teniendo en cuenta las características demográficas del paciente, la etiología y los parámetros analíticos.<sup>117</sup>

### *Limitaciones y reproducibilidad*

La medición de la rigidez hepática puede tener dificultades en pacientes obesos, con espacios intercostales reducidos y en pacientes con ascitis. En diferentes estudios se ha visto que la tasa de fallo varía entre 2,4%-9.4%.<sup>117,118</sup> Algunos estudios sugieren que los resultados de elastografía de transición pueden verse afectados por aumento en los niveles de ALT con normalización de los resultados tras el episodio agudo.<sup>119</sup> La reproducibilidad es un pre-requisito importante por su amplia aplicación en la práctica clínica. En un estudio inicial realizado por Fraquelli y cols donde se realizaron 800 elastografías por 2 operadores en 200 pacientes con diferentes etiologías, se observó que la reproducibilidad fue excelente con un coeficiente bajo de variación estandarizado intra e inter-operador de 0.98.<sup>120</sup>

### *Diagnostico en Hepatitis C*

Los resultados han demostrado que los valores de rigidez hepática se correlacionan de manera robusta con los estadios de fibrosis por Metavir. Los valores de la curva AUROCs fueron desde 0.79-0.83 para fibrosis significativa ( $\geq F2$ ), para pacientes con  $\geq F3$  (AUROCs de 0.90-0.91) y con  $F4$  (AUROCs 0.95-0.97) con puntos de corte con óptima precisión diagnóstica para cada estadio de fibrosis. La correlación entre rigidez hepática y estadio de fibrosis no se vio afectada por la presencia de esteatosis hepática.<sup>117</sup>

### **ARFI**

Otra de las propuestas que han surgido para la medición de la fibrosis hepática es el desarrollo de sistemas de ultrasonidos en tiempo real equipados con módulos de elastografía especiales, que permiten estimar la fibrosis hepática con sondas convencionales de ultrasonido durante un examen de ecografía de rutina. La elastografía de impulso de fuerza de radiación acústica (ARFI) es una tecnología comercializada por Siemens que integra la elastografía y la ultrasonografía convencional en modo B. Muestra una eficacia diagnóstica similar a la

elastografía transitoria para detectar una fibrosis significativa de acuerdo con Meta-análisis de Bota et al. Los primeros resultados obtenidos se observaron con el sistema Hitachi EUB-8500, en 79 pacientes con hepatitis crónica viral, la curva AUROC para el diagnóstico de fibrosis significativa fue de 0,75 (puntuación de elasticidad).<sup>110</sup>

#### **4.4. Métodos Invasivos**

##### **Biopsia hepática**

La evaluación histopatológica del tejido hepático a través de biopsia percutánea ha sido tradicionalmente considerado como el “*gold standard*” para la evaluación de la fibrosis hepática. Sin embargo, la biopsia hepática es un método invasivo, en ocasiones doloroso, con raras pero potenciales complicaciones que conlleva a poca aceptación por parte del paciente.<sup>121</sup>

La precisión de la biopsia hepática para evaluar la fibrosis también ha sido cuestionada, debido al error de muestreo y a la variabilidad intra e inter observador que puede conducir a una sobre o infraestadificación de la fibrosis hepática, a pesar de que sea realizada e interpretada por personal experimentado, puede conllevar hasta un 20% en la tasa de error en la estadificación de la enfermedad.<sup>117</sup>

Otras de las desventajas de la biopsia hepática es que existe una falta de sistema de puntuación universal de la fibrosis. La interpretación de los estudios que determinan la fibrosis hepática se ve obstaculizada por la falta de estandarización de las puntuaciones de fibrosis hepática. Se han desarrollado varios sistemas de puntuación que clasifican el grado de fibrosis hepática en una escala de 5 pasos en el que se incluye a la puntuación de fibrosis de Knodell o en una escala de 7 pasos como la puntuación de fibrosis Ishak. Hasta la fecha, los patólogos no han llegado a un consenso universal sobre la estandarización de los sistemas de puntuación. Sin embargo, la puntuación histopatológica de la fibrosis por diferentes sistemas parece ser bastante robusta, ya que la comparación entre el score de Ishak y Metavir dio un excelente resultado.<sup>110,122</sup>

#### **5.0 RESPUESTA AL TRATAMIENTO ANTIVIRAL Y MEJORIA DE LA FIBROSIS HEPATICA**

##### **5.1 Reversibilidad de la fibrosis**

La reversibilidad de la fibrosis tras el aclaramiento del virus de la hepatitis C es uno de los objetivos principales tras el tratamiento antiviral. Esta mejoría se ha documentado en varias hepatopatías crónicas, principalmente en pacientes con Hepatitis B y C, en especial en esta última cuando los pacientes alcanzan la RVS.

Esta mejoría se ha documentado principalmente en pacientes con VHC que han recibido tratamientos basados en interferón, aunque también se ha observado en otras hepatopatías como son: hepatitis autoinmune, Hemocromatosis, Enfermedad de Wilson, esteatohepatitis no alcohólica, etc.<sup>123,124</sup>

El análisis histológico de biopsias hepáticas ha demostrado desaparición completa de los datos de inflamación y de forma concomitante una disminución de los resultados de fibrosis en pacientes con RVS; así se ha demostrado en diversos estudios.<sup>125,126</sup> A día de hoy la biopsia hepática no se considera como el mejor método debido a su naturaleza invasiva. La elastografía de transición es el método empleado en la mayoría de los casos para evaluar la mejoría de la fibrosis, aunque las razones por la que este fenómeno ocurre aún no están muy claras. De hecho, se sabe de antemano que la elastografía de transición está influenciada por la inflamación a nivel hepático; por lo tanto, la reducción del valor de la rigidez hepática podría estar totalmente correlacionada con el cese o la disminución de la actividad a nivel hepático.<sup>127</sup>

La disminución de la fibrosis a largo plazo inducida por el tratamiento antiviral ha demostrado que provoca una mejoría en el pronóstico de estos pacientes. Múltiples estudios de pacientes han demostrado que el tratamiento con interferón logra una mejoría bioquímica e histológica, en este sentido, múltiples mecanismos se han propuesto al efecto anti-fibrótico del interferón incluyendo al INF- alfa que puede reducir directamente la fibrogénesis.

Así lo ha propuesto Poynard y cols, ellos observaron que los factores asociados a la regresión de la fibrosis en pacientes con VHC tratados con interferón fueron: El estadio basal de fibrosis, la actividad basal, la respuesta viral sostenida, el IMC, la edad y la carga viral.<sup>128</sup>

En otro estudio publicado por Calvaruso y cols se observó que los niveles de GGT e IMC fueron factores independientes en el análisis multivariado asociados a resultados elevados en la elastografía de transición, sugiriendo el rol importante que tienen los co-factores metabólicos en la regresión de la fibrosis hepática.<sup>127</sup>

#### *Mecanismo de regresión de la fibrosis*

Los primeros resultados de mejoría de la fibrosis viene dado por modelos de ratas con cirrosis por tetracloruro de carbono o por ligadura del conducto biliar, en el que se observó que la mejoría de la fibrosis estaba asociada a una apoptosis de las células estrelladas tras la suspensión del tóxico o tras la recanalización del conducto biliar. En adición, la supervivencia de las células estrelladas hepáticas y la apoptosis están reguladas por factores de crecimiento expresados durante la lesión hepática fibrótica. De hecho se observó que tras 1 año de la



suspensión del tóxico, la cirrosis micronodular sufrió cambios de remodelación a cirrosis macronodular, con disminución significativa de inhibidores de metaloproteinasas 1 (TIMP-1) y colágeno tipo 1.<sup>129</sup> De todas formas este concepto de regresión de fibrosis en animales no es reproducible en humanos. Diferentes estudios realizados en células estrelladas hepáticas humanas y en tejidos hepáticos obtenidos de pacientes con hepatitis viral crónica han sugerido que las células pro-fibrogénicas humanas y particularmente las células estrelladas hepáticas se caracterizan por una resistencia a la apoptosis una vez activadas y completamente implicadas en el proceso de fibrogénesis.<sup>129</sup>

Aunque la fibrosis parece ser un proceso reversible acompañado de regresión del tejido cicatricial, el establecimiento de una remodelación clara o un mecanismo apoptótico subyacente al proceso de regresión al parecer sigue siendo un objetivo difícil de alcanzar. La degradación fibrosa relacionada con la enfermedad reciente y caracterizada por la presencia de finas fibras de reticulina, a menudo en presencia de infiltrado inflamatorio difuso, es probable que sea totalmente reversible, mientras que la fibrosis de larga duración, caracterizada por reticulación extensa de colágeno en una matriz extracelular acelular/ paucicelular densa con disminución de la expresión y/o actividad de metaloproteinasas específicas, al parecer, no lo es.<sup>129</sup>

## **5.2 Impacto de la respuesta viral sostenida en la mejoría de la fibrosis**

Los diferentes tratamientos antivirales basados o no en interferón tras inducir la RVS han modificado e impactado de manera positiva los datos de inflamación y fibrosis hepática, en los pacientes con infección crónica por virus C, independientemente del tipo de tratamiento empleado.

Múltiples estudios han analizado la mejoría de la enfermedad hepática por biopsia hepática pre y post tratamiento antiviral, demostrándose que tras la RVS existe estabilización o disminución de la fibrosis hepática, incluyendo regresión de fibrosis.<sup>130</sup> A pesar de esto existe un 1-14% de los pacientes con RVS en los que progresa la fibrosis.

Poynard y cols en el año 2013 evaluaron un total de 993 pacientes con Fibrotest y elastografía de transición como marcadores de fibrosis y observaron una disminución de la cirrosis en el 49% (24/42) de los pacientes con RVS. También describieron que hubo 15 (12%) nuevos casos de cirrosis de 128 pacientes con RVS con fibrosis avanzada al momento de su inclusión. (F0-F3). El tiempo transcurrido para la valoración de estos resultados fueron 10 años, delimitando la tasa de prevalencia de regresión de fibrosis solamente a un 5% al cabo de 10 años. Algo importante que observaron los autores en este estudio fue que aquellos pacientes más

jóvenes y con recuento de plaquetas más elevado fueron aquellos factores los que se asociaron de forma importante con la regresión de la fibrosis, sugiriendo que la cirrosis en estadios tempranos presentaba una mayor tendencia a la regresión en comparación con la cirrosis ya establecida y que además la ausencia de hipertensión portal era un factor determinante en la reversibilidad.

Shiffman y cols en un estudio publicado en el 2014 también observaron, como aquellos pacientes tratados con interferón que lograban la RVS, el 63% presentaba regresión de la fibrosis de 1 estadio o más, un 33% no presentaba cambios y 1% tuvo más fibrosis al cabo de un seguimiento de 5 años de haber alcanzado de la RVS. En este mismo estudio también se observó de forma global que un 40% de los pacientes tuvieron una mejoría completa de la fibrosis y un 50% no tenía evidencia de cirrosis al cabo de 5 años de seguimiento tras la RVS. En aquellos pacientes que no alcanzaron la RVS tras el tratamiento con interferón se observó un beneficio histológico de disminución en la tasa de progresión de la fibrosis.<sup>131</sup>

En estudios recientes se ha evaluado la utilidad de la elastografía de transición como método para evaluar a corto y a largo plazo los cambios en la fibrosis hepática después del tratamiento antiviral. De forma global todos los estudios concluyen que el alcanzar la RVS está asociado con una reducción de la rigidez hepática post tratamiento, aunque existen diferentes diseños y seguimientos en estos estudios.

Stasi y cols observaron que de forma general cuando se compara la rigidez pre tratamiento con la post tratamiento, existe una reducción significativa en los niveles de elasticidad, y esto se observó en diferentes tiempos tras la finalización del tratamiento que variaba desde la semana 38 hasta un máximo de 3 años, indicando definitivamente que existe un grado de regresión de la fibrosis.<sup>132</sup>

El estudio de Arima y cols demostró que los valores de la rigidez hepática pre tratamiento se redujeron de forma significativa al momento de finalización del tratamiento en comparación con los valores de la elastografía al año o a los 2 años post tratamiento. Ogawa y cols compararon los valores de elasticidad hepática entre pacientes con RVS versus no RVS, observándose una mayor reducción al final del tratamiento, a la semana 48 y a la semana 96 en aquellos pacientes con RVS.<sup>133,134</sup>

En la mayoría de los pacientes se ha demostrado una mejoría en la inflamación y fibrosis tras alcanzar la RVS, sin embargo en grandes ensayos clínicos, una minoría de pacientes (hasta 15%) mantiene su estadio de fibrosis o incluso progresan a la cirrosis a pesar de alcanzar la RVS.<sup>128,135</sup>

### 5.3 Implicaciones de la RVS a largo plazo y su influencia en el desarrollo de complicaciones

La hepatitis crónica por VHC provoca anualmente la muerte de aproximadamente 350,000 personas en todo el mundo. Tras la infección aguda el VHC tiende a cronificar y evolucionar en diversos estadios de fibrosis, desde la fibrosis significativa hasta la cirrosis, la cirrosis compensada, cirrosis descompensada y desarrollo de hepatocarcinoma. Esta historia natural es muchas ocasiones está influenciada por múltiples factores que aceleran o desaceleran la evolución de la fibrosis en el tiempo. El factor principal de no progresión de la fibrosis es el tratamiento antiviral, específicamente la curación virológica, ya que provoca el cese de la actividad inflamatoria a nivel hepatocitario.

Múltiples ensayos clínicos han demostrado el beneficio de alcanzar la RVS en términos de desarrollo de complicaciones a corto y largo plazo. La RVS por lo general se acompaña de una disminución en la morbi-mortalidad, de una mejoría en la calidad de vida<sup>136</sup> y de una disminución en el riesgo de complicaciones asociadas a una enfermedad hepática avanzada (encefalopatía hepática; HDA. CHC, ascitis) etc.<sup>40,137,138</sup>

Es importante destacar que a pesar de la RVS en aquellos pacientes con enfermedad hepática avanzada, el riesgo de desarrollar Carcinoma Hepatocelular permanece al menos 8-10 años después de la curación virológica.<sup>139</sup>

La tasa de progresión a cirrosis es muy variable y oscila a los 20-30 años entre el 2 y el 20% según diferentes estudios. Sin embargo la frecuencia de progresión más aceptada es del 15-20% en 20-30 años. Una vez instaurada la cirrosis el riesgo de descompensación es del 2%/año y el de hepatocarcinoma oscila entre 0.7-1.3%/año en estudios prospectivos, en estudios retrospectivos oscila entre 1 al 23%/año.<sup>36</sup>

El término Respuesta Viral Sostenida, comúnmente se emplea para delimitar a aquellos pacientes sin viremia tras un curso de tratamiento antiviral exitoso en la semana 12 post-tratamiento. La durabilidad de esta supresión viral se ha documentado en múltiples cohortes de pacientes con seguimiento mayor a 18 años.<sup>135,140</sup>

Uno de los estudios de mayor impacto en términos de RVS y complicaciones, fue el publicado por Van Der Meer, en el que se incluyeron un total de 530 pacientes con una media de seguimiento de 8,4 años. En este estudio se observó una tasa de mortalidad del 7% en pacientes con RVS vs 30% no RVS, en el 70% de los casos fue por causa hepática y en el 15% no asociada a causa hepática. Un 4% de los pacientes con RVS se les diagnosticó un Hepatocarcinoma después de 6,8 años de haber alcanzado la RVS en comparación con un 22%

de hepatocarcinomas en pacientes no RVS. La complicación más frecuente fue la ascitis (65%) seguida de la hemorragia por varices (20%) y encefalopatía hepática (10%). La incidencia acumulada de hepatocarcinoma fue del 5,1% en pacientes con RVS vs 21,8% en pacientes sin RVS. En resumen, en este artículo se demostró que la RVS está asociada con una mejoría en la tasa de supervivencia global y una disminución en el riesgo de mortalidad de cualquier causa.<sup>40</sup>

### **III. OBJETIVOS**

### **3.1 OBJETIVOS PRIMARIOS:**

1. Evaluar el impacto de la Respuesta Viral Sostenida en el desarrollo de descompensación clínica en pacientes con enfermedad hepática avanzada tratados con Triple Terapia y distintas combinaciones de Antivirales de Acción Directa
2. Evaluar el impacto de la Respuesta Viral Sostenida sobre la mejoría y/o regresión de la fibrosis evaluada por Elastografía de transición ó Fibroscan®.

### **3.2 OBJETIVOS SECUNDARIOS:**

1. Identificar factores predictores de respuesta al tratamiento.
2. Determinar el tipo de descompensación hepática más frecuente en los distintos tratamientos.
3. Identificar los factores basales que influyen en el desarrollo de descompensación hepática y mejoría
4. Identificar los factores basales que influyen en la mejoría hepática de la Elastografía de Transición ó Fibroscan®.
5. Describir el impacto de la RVS sobre la incidencia de Carcinoma Hepatocelular en ambas cohortes de tratamiento.

## **IV. PACIENTES Y MÉTODOS**

#### **4.1 Diseño del estudio**

Análisis retrospectivo de una cohorte de pacientes consecutivos recogida prospectivamente en 3 hospitales españoles. Se analizó el impacto de la respuesta viral sostenida en el desarrollo de descompensación clínica y mejoría o regresión de la Fibrosis mediante Fibroscan® en pacientes tratados con triple terapia (Cohorte A) y con diferentes combinaciones de Antivirales de Acción Directa (Cohorte B) en el periodo comprendido desde Diciembre 2008 hasta Mayo 2015. Los pacientes fueron incluidos en el estudio de forma consecutiva tras la visita en las consultas monográficas de Hepatitis virales de cada uno de los Hospitales participantes. El presente estudio se diseñó según las normas de Buena Práctica Clínica y fue aprobado por el Comité de Ética del Hospital Universitario Puerta de Hierro de Majadahonda, Madrid.

Los centros que participaron en la inclusión de pacientes fueron:

- Hospital Universitario Puerta de Hierro de Majadahonda, Madrid
- Hospital Universitario Marqués de Valdecilla, Santander
- Hospital del Mar, Barcelona

#### **4.2 Población de estudio**

Todos los pacientes incluidos en este estudio estaban diagnosticados de infección crónica por el virus de la Hepatitis C, naïve o pre-tratados, con genotipos 1, 2, 3, 4 y 5 en el ámbito de la práctica clínica habitual a los que se les prescribió tratamiento antiviral con triple terapia o con Antivirales de Acción Directa libres de interferón de acuerdo a lo establecido en las guías Española y Europea de tratamiento, al protocolo de la Consejería de Sanidad de la Comunidad de Madrid y a las recomendaciones de la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios. Debido a que fue un estudio no aleatorizado, de práctica clínica real, la elección del tratamiento fue a discreción del médico tratante y a la disponibilidad de los fármacos en ese momento.

Se incluyeron de forma consecutiva un total de 594 pacientes desde diciembre 2008 hasta mayo 2015; en los que se recogieron variables demográficas, hematológicas, bioquímicas, del tratamiento, clínicas como descompensación y de fibrosis. Se realizó un seguimiento de todos los pacientes desde el inicio del tratamiento hasta 1 año después de su finalización.

Ningún paciente al momento de su inclusión en el estudio había presentado datos de descompensación clínica o trasplante hepático ya que era un criterio de exclusión y además la



descompensación era uno de los objetivos principales de este estudio; por lo tanto, se ha descrito una población de pacientes compensados.

#### **4.3 Criterios de Selección**

**Criterios de Inclusión:** Pacientes mayores de 18 años, de ambos sexos, con infección crónica del virus de la hepatitis C, con indicación de tratamiento antiviral

**Criterios de Exclusión:** Co-infección con VIH o VHB, trasplante hepático, descompensación en el momento de la inclusión o previa, presencia de citopenias severas, trastornos psiquiátricos, contraindicación para recibir interferón.

#### **4.4 Variables analizadas**

Se recogieron los datos basales de los pacientes y del seguimiento hasta 1 año después del fin de tratamiento.

##### ***4.4.1 Datos demográficos y epidemiológicos***

Se recogieron los siguientes datos de la historia clínica de los pacientes: Edad, sexo, talla, peso, consumo de alcohol, enfermedades concomitantes, genotipo y subtipo del VHC, antecedentes de tratamiento previo, grado de fibrosis por Fibroscan® o por biopsia hepática, IL28B, datos de hipertensión portal (varices esofágicas, esplenomegalia).

##### ***4.4.2 Determinaciones de laboratorio***

Los principales parámetros analizados en los pacientes a lo largo del tratamiento fueron: Hemoglobina, plaquetas, AST, ALT, bilirrubina, GGT, fosfatasa alcalina, glucosa, albumina, colesterol total, HDL, LDL, triglicéridos, INR. Además, se realizaron otras determinaciones como la serología de VIH y VHB, carga viral. Las determinaciones se realizaron utilizando los métodos empleados y validados en la práctica clínica habitual en los Servicios de Microbiología de cada hospital participante y se expresaron de la siguiente manera: Hemoglobina (g/dL), Plaquetas (células/mm<sup>3</sup>), AST (UI/L), ALT (UI/L), Bilirrubina total (mg/dL), Gamma-glutamyl-transpeptidasa (UI/L), Fosfatasa alcalina (UI/L), Glucosa (mg/dL), Colesterol total (mg/dL), HDL (mg/dL), LDL (mg/dL), Triglicéridos (mg/dL), Albúmina (g/L), INR (International Normalized Ratio)

##### ***4.4.3 Determinación de la carga viral***

Para la determinación cuantitativa del ARN del VHC se realizó mediante el procedimiento COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Quantitative versión 2.0 (Roche Molecular

Diagnostics) en el Servicio de Microbiología de cada hospital participante. Determina concentraciones de carga viral superiores a 15 UI/mL.

#### **4.4.4 Determinación del genotipo viral**

La determinación del genotipo viral se realizó, en el Servicio de Microbiología de cada Hospital, mediante un análisis basado en la reacción en cadena de polimerasa con transcripción inversa (RT-PCR) con la tecnología Versant HCV Genotype 2.0 Lipa.

#### **4.4.5 Análisis del polimorfismo del gen IL28B (rs12979860)**

El genotipo del polimorfismo rs12979860 de la IL28B se determinó por PCR a tiempo real (LightCycler® 2.0, Roche) mediante el “LightMix Kit IL28B”, validado para el diagnóstico.

#### **4.4.6 Análisis de la fibrosis**

La evaluación de la fibrosis hepática se realizó mediante Elastografía de transición (Fibroscan® modelo 502, ECHOSENS™) por personal entrenado y cualificado en la Unidad de Ecografía del Servicio de Aparato Digestivo de cada Hospital. Para la realización del Fibroscan® los pacientes debían tener un ayuno de al menos 6 horas; se colocaba al paciente en decúbito supino con el brazo derecho en máxima abducción, se procedía a colocar la sonda en la piel al nivel del séptimo y noveno arco costal derecho. Bajo visualización de imagen ecográfica que confirmaba la adecuada colocación de la sonda y sin interferencia de estructuras vasculares, se procedió a realizar al menos 10 mediciones válidas. En todos los pacientes se empleó la sonda M. La mediana de elasticidad hepática se consideró representativa cuando cumplía los criterios de idoneidad: 1) Al menos 10 mediciones válidas, 2) IQR <30% y tasa de éxito de > 60%. Los resultados de Elastografía se expresaron en grado de fibrosis según el sistema METAVIR mediante los puntos de corte establecidos por Platon y cols: F0-1 (sin fibrosis o fibrosis leve) para valores menores o iguales a 7.3 KPa, F2 (fibrosis moderada) para valores entre 7.4-9.0 KPa, F3 (fibrosis avanzada) para valores entre 9.1-13.1 KPa y F4 (cirrosis) para valores iguales o mayores a 13.2 KPa.<sup>141,142</sup>

#### **4.4.7 Variables asociadas al tratamiento antiviral:**

El periodo de tratamiento establecido para los pacientes que recibieron triple terapia fue entre 24 y 48 semanas. Para los que solo recibieron tratamiento con AAD la duración fue entre 12-24 semanas.

La ausencia de respuesta o carga viral detectable en cualquier momento durante el tratamiento o en semana 12 post tratamiento se definió como fracaso virológico. Se establecieron las siguientes variables:

- Interferón- Pegilado (PEG-INF): Administrado por vía subcutánea, una dosis semanal. En todos los hospitales estuvieron disponibles las dos fórmulas de PEG-INF: PEG-INF $\alpha$ 2b (PEG-INTRÓN, Schering®), y el PEG-INF $\alpha$ 2a (PEGASYS, Roche®), ambos se utilizaron indistintamente. Las dosis utilizadas para el PEG-INF alfa-2a fueron 180  $\mu$ g a la semana y de PEG-INF $\alpha$ 2b ajustadas al peso; menos de 40 Kg: 50  $\mu$ g/semana, entre 40 y 64 Kg: 80  $\mu$ g/semana, entre 65 y 75 Kg: 100  $\mu$ g/semana, entre 76 y 85 Kg: 120  $\mu$ g/semana y mayor de 85 Kg: 150  $\mu$ g/semana.

- Ribavirina: (Copegus®, Rebetol®, comprimidos de 200 mg): a dosis diarias ajustadas al peso; 800 mg si < 64 Kg, 1000 mg si > 65- <74 Kg, 1200 mg  $\geq$  75 Kg.

- Ombitasvir/ Paritaprevir/ Ritonavir/Dasabuvir (régimen 3D/2D)

- Sofosbuvir/Ledipasvir

- Sofosbuvir/Simeprevir

- Sofosbuvir/Ribavirina

- Sofosbuvir/Daclatasvir

- Elbasvir + Grazoprevir

- Daclatasvir + Asunaprevir

#### **4.4.8 Variables relacionadas con la efectividad**

Se definió a la respuesta viral sostenida, como ARN del VHC indetectable en la semana 12 post tratamiento.

#### **4.4.9 Variables relacionadas con la descompensación**

Se recogieron todos los datos de complicaciones desarrolladas por los pacientes durante o tras finalizar el tratamiento (tras 1 año de seguimiento) que se registraron en la historia clínica por los médicos responsables de los pacientes. Se definió como descompensación hepática, al desarrollo de:

- Ascitis

- Hemorragia digestiva por varices

- Encefalopatía Hepática
- Peritonitis Bacteriana espontanea
- Carcinoma Hepatocelular

Debido a la alerta emitida por la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS) del 5 de diciembre de 2016 (90) en relación a los AAD y el desarrollo recurrente o de novo de Carcinoma Hepatocelular seleccionaron las siguientes variables para su análisis:

- Fecha de diagnostico
- Estadío según el BCLC
- Numero de lesiones
- Tratamiento recibido (Cirugía/Trasplante/Ablativo/TACE/Sorafenib/Sintomático)
- Respuesta al tratamiento: Respuesta completa, respuesta parcial, recidiva tratable, recidiva no tratable.
- Fallecimiento: Si/No
- Causa de fallecimiento

#### ***4.4.10 Variables relacionadas a la mejoría o regresión de la fibrosis***

Se recogieron todos los datos de Elastografía de transición o Fibroscan® basal y tras 1 año post tratamiento. Se evaluó el impacto de la RVS sobre la mejoría del Fibroscan y sobre la disminución global por grados de fibrosis tras 1 año de haber finalizado el tratamiento.

### **4.5 Análisis estadístico**

Se creó una base de datos en EXCEL con los principales parámetros demográficos, clínicos, bioquímicos, genéticos y virales. El procesamiento de los datos y el análisis estadístico se llevó a cabo con el software SPSS versión 22.0 para Windows (SPSS Inc, Chicago, Illinois, USA) y MedCalc versión 15.6.1. (Mariakerke, Belgium) y se consideraron niveles de significación estadística por debajo del 5% ( $p < 0.05$ ).

#### ***4.5.1 Estudio descriptivo***

Se realizó el estudio descriptivo de las variables cuantitativas expresadas en la media y su desviación estándar (DE) o la mediana y rango intercuartil en caso de asimetría. Las variables cualitativas se recogen con su distribución de frecuencias expresada en porcentaje. (Tabla 3)

Para comparar esta variable entre los distintos grupos de pacientes considerados, se utilizó la prueba no paramétrica de U de Mann-Whitney para dos medias independientes.

Se ha aplicado diferentes pruebas de hipótesis según la naturaleza de la variable. Estas pruebas son: prueba exacta de Fisher para variables categóricas, la T de Student para variables continuas. La prueba exacta de Fisher se utilizó cuando las frecuencias eran inferiores al 5%. El test de Wilcoxon o el test  $\chi^2$  se utilizaron en las comparaciones de grupo.

Tabla 3 . Variables analizadas

<b>VARIABLES CUALITATIVAS</b>	Sexo, genotipo, tipo de tratamiento, tratamiento previo, tipo de respuesta a tratamientos previos, Fibroscan, respuesta viral sostenida.
<b>VARIABLES CUANTITATIVAS</b>	Edad, peso, talla, IMC, hemoglobina basal, plaquetas basal, bilirrubina total basal, AST basal, ALT basal, GGT basal, fosfatasa alcalina basal, albumina basal, colesterol total basal, HDL basal, LDL basal, triglicéridos basal, INR basal, carga viral basal.

#### **4.5.2 Análisis de regresión logística**

Se realizó en primer lugar una regresión logística univariante para determinar la posible asociación estadística entre las distintas variables y la RVS así como también los factores predictores de respuesta y descompensación. La relación entre las variables analizadas y la RVS se expresó mediante *odds ratio* (OR) y su intervalo de confianza al 95% (IC 95 %).

Se llevó a cabo un análisis multivariante mediante selección por pasos y aproximación de eliminación hacia atrás para mantener predictores con  $p < 0.05$ .

Las variables que mostraron una asociación significativa con la RVS en el análisis univariante se seleccionaron para el multivariante según los siguientes criterios:

- Se seleccionaron aquellas variables más relevantes desde el punto de vista clínico y científico.

- De las variables estadísticamente significativas relacionadas entre sí, se incluyeron en el análisis multivariante las que obtuvieron mayor significación estadística en el análisis univariante.

#### **4.6 Análisis de las variables**

##### ***4.6.1 Análisis de datos demográficos y características basales***

Se realizó un análisis descriptivo en ambas cohortes. Adicionalmente se realizó un análisis comparativo de las características basales en la cohorte de triple terapia para ambos tratamientos (Telaprevir/Boceprevir), a través de este análisis se determinó la existencia o no de diferencias basales en relación a las dos tipos de tratamiento.

##### ***4.6.2 Análisis del tipo de tratamiento antiviral***

Dado que entre los objetivos del estudio no estuvo el comparar la eficacia ni la seguridad de los diferentes regímenes empleados, el análisis de estas variables se realizó por separado para cada una de las cohortes en base a la RVS, los factores asociados a ella y la descompensación.

##### ***4.6.3 Análisis de los factores asociados con la Respuesta Viral Sostenida***

Se ajustaron modelos de regresión logística con el fin de encontrar un modelo jerárquico que predijera la probabilidad de alcanzar la RVS. Se obtuvieron las fórmulas de regresión y las odds ratio ajustadas y sus intervalos de confianza del 95%. En todos los casos, se rechazó la hipótesis nula en los contrastes de hipótesis con un valor de alfa menor de 0,05.

##### ***4.6.4 Análisis del impacto de la RVS sobre la descompensación hepática***

Se analizó cual era la relación entre la respuesta viral sostenida y las distintas formas de descompensación clínica tanto en el grupo de pacientes que recibió Triple terapia como aquellos pacientes tratados con AAD.

##### ***4.6.5 Análisis del impacto de la RVS sobre la mejoría de la rigidez hepática***

Se analizó cual era la relación entre la respuesta viral sostenida y la mejoría de fibrosis hepática expresada en los diferentes grados tanto en pacientes tratados con triple terapia como con AAD.

##### ***4.6.6 Análisis de la incidencia de Carcinoma hepatocelular tras la RVS.***

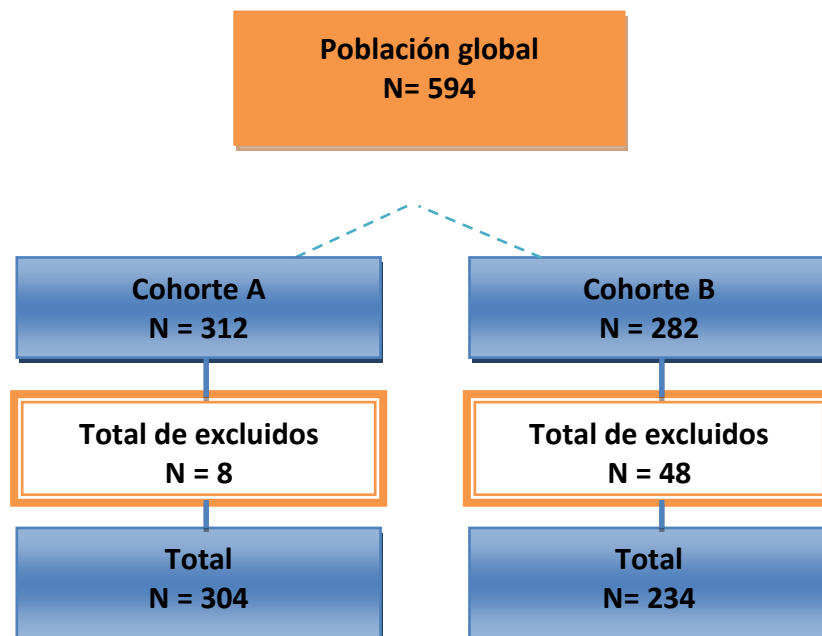
Se analizó cual fue la incidencia de CHC en los pacientes con o sin RVS tras el tratamiento antiviral en la cohorte de triple terapia y AAD.

## **V. RESULTADOS**

Desde Enero 2012 – Enero 2014 se incluyeron un total de 312 pacientes tratados con triple terapia (Interferón-pegilado + inhibidor de proteasa de primera generación + Ribavirina), de los cuales se excluyeron 8 pacientes por haber presentado datos previos de descompensación hepática (Cohorte A = 304 pacientes).

Desde Diciembre 2008 hasta Mayo 2015 se han incluido 282 pacientes tratados con diferentes combinaciones de Antivirales de Acción Directa; en los que se excluyeron a 48 pacientes por previa descompensación (Cohorte B = 234). En esta cohorte un total de n= 58 pacientes procedían de la Cohorte A. (Gráfico.1)

Gráfico 1. Esquema global de los pacientes incluidos





#### **COHORTE A: PACIENTES TRATADOS CON TRIPLE TERAPIA (INTERFERÓN-PEGILADO + INHIBIDOR DE PROTEASA DE PRIMERA GENERACIÓN + RIBAVIRINA)**

Se incluyeron un total de 312 pacientes tratados con triple terapia, de los cuales, se excluyeron 8 por haber presentado datos previos de descompensación hepática. Por lo tanto, el número total de pacientes incluidos y analizados fueron n= 304. El tipo de descompensación hepática presentada por los pacientes excluidos fueron: Ascitis (n= 3), Carcinoma Hepatocelular (n= 3) y Hemorragia por varices esófago-gástricas (n= 2).

##### ***Características basales de la cohorte global.***

En la tabla 4 se describen las características basales de la cohorte global. De los pacientes que se incluyeron en esta cohorte la media de edad fue de 56 años (DE9) con un predominio de varones (n= 207, 68,1%). Todos eran genotipo 1, en los que predominaba el subtipo 1b (n=179, 58,9%); cabe destacar que un 28,6% (n=86) de los pacientes no tenían subtipo. El polimorfismo de la IL28B más frecuente fue el CT (n=96, 31,6%) seguido del TT (n=44, 14,5%) y en 135 (44,4%) pacientes no estuvo determinado.

Más de la mitad de los pacientes en esta cohorte habían recibido un tratamiento previo con interferón-pegilado y ribavirina, (n= 225, 74%), siendo el 21,7% de recidivantes. En un 26,6% (n= 81) el tipo de respuesta previa era desconocida.

La distribución total por grado de fibrosis medida por Elastografía de transición o Fibroscan® fue de: Pacientes F0-F1 un 15.2% (n=46), pacientes F2 un 5,9% (n=18); para F3 un 30,9% (n=94) y para pacientes F4 un 43,4% (n=132). Hubo un total de 14 (4,6%) pacientes que no tenían este resultado basalmente.

La media global de kilopascales (KPa) fue de 15.8 (DE10, 6).

Se obtuvo el IMC de los pacientes calculando el peso y la talla, obteniendo un valor medio de 26,5 (DE4, 3).

Tabla 4 . Características basales de la población global.

<b>Variable</b>	<b>Total de pacientes incluidos (N=304)</b>
<b>Edad media (años)</b>	56 (DE9)
<b>Sexo: Varón</b>	207 (68,1%)
<b>Mujer</b>	97 (31,9%)
<b>Genotipo:</b>	
<b>1</b>	87 (28,6%)
<b>1a</b>	38 (12,5%)
<b>1b</b>	179 (58,9%)
<b>IL28B:</b>	CC: 29 (9,5%) CT: 96 (31,6%) TT: 44 (14,5%) ND: 135 (44,4%)
<b>Respuesta previa</b>	Naïve: 79 (26%) Recidivante: 66 (21,7%) Respondedor parcial: 28 (9,2%) Respondedor nulo: 48 (15,8%) Breakthrough: 2 (0,7%) Desconocida: 81 (26,6%)
<b>Estadio de Fibrosis</b>	F0-F1: 46 (15,2%) F2: 18 (5,9%) F3: 94 (30,9%) F4: 132 (43,4%) ND: 14 (4,6%)
<b>Kilopascals (media)</b>	15,8 (DE10,6)
<b>IMC (kg/m2)</b>	26,5 (DE4,3)

IL28B: Interleuquina 28B, ND: No disponible, IMC: Índice masa corporal

#### **Características basales de los pacientes tratados con Telaprevir (Tabla 5)**

Cuando se analizó la población de forma individual según el tipo de tratamiento recibido, se observó que el 60,5% (n=184) recibieron tratamiento triple con Telaprevir (TVR). En este grupo, la media de edad fue de 55 años. Dos tercios eran varones (n= 123, 66.8%) y un tercio mujeres (n = 61, 33,2%). Predominó el genotipo 1b (n= 97, 52,7%) y la IL28B CT (n =65, 35.3%).

El tipo de respuesta previa más prevalente fue la de pacientes recidivantes (n= 52, 28.3%) seguido de naïve (n= 40, 21.7%).

El 70% de estos pacientes tenía una fibrosis avanzada F3 y F4 (n = 67, 36.4%) (n = 63, 34.2%) respectivamente. La media de KPa en este grupo fue de 13,7 (DE8, 4).

#### **Características basales de los pacientes tratados con Boceprevir (Tabla 5)**

El 39,5% (n=120) recibió Boceprevir (BOC). En este grupo la media de edad fue de 56 (DE9) años, el 70% eran varones (n= 84, 70%) con genotipo 1b (n= 82, 68.3%) e IL28B CT (n= 31,

25,8%). En este grupo, el tipo de respuesta previa más frecuente fueron los naïve (n= 39, 32.5%) seguido de los respondedores nulos (n= 34, 28.3%). Cabe señalar que en ambos grupos, tanto en Telaprevir como en Boceprevir, en un porcentaje no desdeñable de pacientes se desconocía el tipo de respuesta a tratamiento previo.

Más del 70% tenía una fibrosis grado 3 (n= 27, 22.5%) y grado 4 (n = 69, 57,5%).

La media de KPa en esta cohorte fue de 19.3 (DE12, 8); más elevados que en el grupo de TVR.

Tabla 5 . Características basales de pacientes tratados con Telaprevir y Boceprevir

<b>Variables</b>	<b>Tratados con TVR (N= 184)</b>	<b>Tratados con BOC (N=120)</b>	<b>Valor P</b>
<b>Edad media (años)</b>	55 (DE9)	56 (DE9)	0,7
<b>Sexo: Varón Mujer</b>	123 (66,8%) 61 (33,2%)	84 (70%) 36 (30%)	0,6
<b>Genotipo: 1 1a 1b</b>	65 (35,3%) 22 (12%) 97 (52,7%)	22 (18,3%) 16 (13,3%) 82 (68,3%)	<b>0,001</b>
<b>IL28B:</b>	CC: 19 (10,3%) CT: 65 (35,3%) TT: 33 (17,9%) ND: 67 (36,4%)	CC: 10 (8,3%) CT: 31 (25,8%) TT: 11 (9,2%) ND: 68 (56,7%)	<b>0,001</b>
<b>Respuesta previa</b>	Naïve: 40 (21,7%) Recidivante: 52 (28,3%) Resp. parcial: 14 (7,6%) Resp. nulo: 14 (7,6%) Desconocida: 64 (34,8%)	Naïve: 39 (32,5%) Recidivante: 14 (11,7%) Respondedor parcial: 14 (11,7%) Respondedor nulo: 34 (28,3%) Breakthrough: 2 (1,7%) Desconocida: 17 (14,2%)	<b>&lt;0,001</b>
<b>Estadio de Fibrosis</b>	F0-F1: 36 (19,6%) F2: 13 (7,1%) F3: 67 (36,4%) F4: 63 (34,2%) ND: 5 (2,7%)	F0-F1: 10 (8,3%) F2: 5 (4,2%) F3: 27 (22,5%) F4: 69 (57,5%) ND: 5 (2,7%)	<b>&lt;0,001</b>
<b>Media Kpa</b>	13,7 (DE8,4)	19,3 (DE12,8)	<b>&lt;0,001</b>
<b>IMC (kg/m2)</b>	26,7 (DE4,2)	26,1 (DE4,4)	0,3

IL28B: Interleuquina 28B, ND: No disponible, IMC: Índice masa corporal

### Parámetros analíticos basales

En las tablas 6 y 7 se recogen los resultados de los principales parámetros analíticos basales que se analizaron tanto en la cohorte global como de forma individual por tratamiento. Entre ellos destaca: plaquetas, ALT, AST, GGT, perfil de lípidos, albúmina, coagulación etc.

Se confirmó que los datos de función hepática de la población global pertenecían a pacientes compensados, con una media de Bilirrubina de 0,8 (SD0.5), Albúmina 4.3 (SD0.4) e INR 1.5 (SD 6,3). A pesar de que los valores se correspondían con pacientes compensados, se observó que el grupo de Boceprevir mostró parámetros analíticos discretamente peores en comparación con Telaprevir.

Tabla 6 . Parámetros analíticos basales de la población global

<i><b>Variables</b></i>	<i><b>Total de pacientes incluidos (N=304)</b></i>
<i><b>Plaquetas (10x3/mL)</b></i>	<i><b>167 (DE60,2)</b></i>
<i><b>ALT (U/L)</b></i>	<i><b>97 (DE73)</b></i>
<i><b>AST (U/L)</b></i>	<i><b>78 (DE56)</b></i>
<i><b>Bilirrubina (mg/dL)</b></i>	<i><b>0,8 (DE0,5)</b></i>
<i><b>Fosfatasa alcalina (U/L)</b></i>	<i><b>89 (DE36)</b></i>
<i><b>GGT (U/L)</b></i>	<i><b>107 (DE97)</b></i>
<i><b>Albúmina (g/dL)</b></i>	<i><b>4,3 (DE0,4)</b></i>
<i><b>INR</b></i>	<i><b>1,5 (DE6,3)</b></i>
<i><b>Colesterol (mg/dL)</b></i>	<i><b>170 (DE33)</b></i>
<i><b>HDL (mg/dL)</b></i>	<i><b>53 (DE18)</b></i>
<i><b>LDL (mg/DI)</b></i>	<i><b>97 (DE30)</b></i>
<i><b>Triglicéridos (mg/dL)</b></i>	<i><b>130 (DE57)</b></i>

ALT: Alaninoaminotransferasa, AST: Aspartatoaminotransferasa, GGT: Gamma-glutamilttransferasa, INR: International Normalized Ratio, HDL: High density lipoprotein, LDL: Low density lipoprotein.

Tabla 7 . Parámetros analíticos basales de Telaprevir y Boceprevir

<i>Variables</i>	<i>Total de pacientes tratados con TVR (N=184)</i>	<i>Total de pacientes tratados con BOC (N=120)</i>	<i>Valor P</i>
<b><i>Plaquetas (10x3/mL)</i></b>	176 (DE60,2)	153 (DE58)	<b>&lt;0,001</b>
<b><i>ALT (U/L)</i></b>	86 (DE60)	115 (DE87)	<b>0,001</b>
<b><i>AST (U/L)</i></b>	67 (DE44)	96 (DE67)	<b>0,001</b>
<b><i>Bilirrubina (mg/dL)</i></b>	0,7 (DE0,4)	0,9 (DE0,5)	<b>&lt;0,001</b>
<b><i>Fosfatasa alcalina (U/L)</i></b>	85 (DE26)	96 (DE46)	<b>0,01</b>
<b><i>GGT (U/L)</i></b>	101 (DE96)	116 (DE97)	0,2
<b><i>Albúmina (g/dL)</i></b>	4,3 (DE0,35)	4,2 (DE0,4)	<b>0,004</b>
<b><i>INR</i></b>	1,7 (DE8)	1,2 (DE1,1)	0,5
<b><i>Colesterol (mg/dL)</i></b>	173 (DE33)	166 (DE33)	0,1
<b><i>HDL (mg/dL)</i></b>	52 (DE16)	55 (DE20)	0,3
<b><i>LDL (mg/dL)</i></b>	100 (DE30)	91 (DE30)	0,1
<b><i>Triglicéridos (mg/dL)</i></b>	133 (DE51)	124 (DE65)	0,3
<b><i>Carga viral (Log)</i></b>	6,1 (DE0,6)	6,1 (DE0,7)	0,5

ALT: Alaninoaminotransferasa, AST: Aspartatoaminotransferasa, GGT: Gamma-glutamiktransferasa, INR: International Normalized Ratio, HDL: High density lipoprotein, LDL: Low density lipoprotein.

#### ***Características basales de pacientes F4***

Estas características se describen en la tabla 8. Del total de los 304 pacientes de la muestra global, 136 eran F4. De estos 136 pacientes, 132 fueron catalogados como F4 por Elastografía de transición o Fibroscan® con valores de KPa  $\geq 13,2$ , los 4 restantes fueron F4 por biopsia hepática.

En este grupo de pacientes se observó que la media de edad fue de 57 años con una desviación estándar de  $\pm 8$  años. Aproximadamente dos tercios eran varones (n=98, 72,1%) y un tercio eran mujeres (n=38, 27,9%). La mayoría eran genotipo 1b (n= 93, 68,4%) con interleuquina 28B CT (n=34, 25%), nuevamente en esta población un 50,7% (n=69) de los pacientes no tenían disponible este resultado.

En esta población, el 22,8% eran naïve (n=31) y el 22,1% (n=30) respondedores nulos a interferón-pegilado y ribavirina. Seguido de estos dos grupos en frecuencia, se encontraban los pacientes recidivantes (n=25, 18,4%).

La media de KPa en esta población fue de 22 (DE10,9).

Tabla 8 . Características basales de pacientes con fibrosis grado 4.

<b>Variables</b>	<b>Total de pacientes F4 (n= 136)</b>
<b>Edad media (años)</b>	57 (DE8)
<b>Sexo: Varón</b>	98 (72,1%)
<b>Mujer</b>	38 (27,9%)
<b>Genotipo:</b>	
<b>1</b>	19 (14%)
<b>1a</b>	24 (17,6%)
<b>1b</b>	93 (68,4%)
<b>IL28B</b>	CC: 11 (8,1 %) CT: 34 (25 %) TT: 22 (16,2 %) ND: 69 (50,7 %)
<b>Respuesta previa</b>	Naïve: 31 (22,8%) Recidivante: 25 (18,4%) Resondedor parcial: 17(12,5% Respondedor nulo: 30 (22,1%) Breakthrough: 2 (1,5%) Desconocido: 31 (22,8%)
<b>Media Kpa</b>	22 (DE10,9)
<b>IMC (kg/m2)</b>	27,8 (DE4,9)

ND: no disponible, IMC: índice masa corporal, IL28B: Interleuquina 28B

#### **Características basales de pacientes F4 tratados con Telaprevir**

En la tabla 9 se recogen las características basales de los F4 con cada tratamiento.

De los 136 F4, un total de 65 pacientes (47,8%) recibió Telaprevir. En este grupo los pacientes tenían una media de edad de 56 años, con mayoría de varones (n= 45, 69,2%), genotipo 1b (n= 41, 63,1%) y naïve (n= 15, 23.1%). La media de KPa en este grupo fue de 21,5 (DE8, 5) y el IMC de 28,5 (DE4, 8).

#### **Características basales de pacientes F4 tratados con Boceprevir**

Del total de la muestra de F4, 71(52,2%) recibieron tratamiento triple con Boceprevir.

En este grupo se observó una edad media de 57 años (DE 8.5), 75% (n= 53) varones y genotipo 1b (n=52, 73,2%). A diferencia de los tratados con TVR, en este grupo se observó una mayoría de pacientes respondedores nulos (n= 23, 32,4%) seguidos de los naïve (n= 16, 22.5%).

La media de KPa en BOC fue de 24,4 (DE12, 6) y de IMC 27,2 (DE 4,9).

Tabla 9 . Características basales de pacientes F4 con Telaprevir y Boceprevir

<b>Variables</b>	<b>Tratados con TVR (n= 65)</b>	<b>Tratados con BOC (n= 71)</b>	<b>Valor P</b>
<b>Edad media (años)</b>	56 (DE8,3)	57 (DE8,5)	0,8
<b>Sexo: Varón</b>	45 (69,2)	53 (74,6%)	0,5
<b>Mujer</b>	20 (30,8)	18 (25,4%)	
<b>Genotipo:</b>			
<b>1</b>	11 (16,9%)	8 (11,3%)	0,4
<b>1a</b>	13 (20%)	11 (15,5%)	
<b>1b</b>	41 (63,1%)	52 (73,2%)	
<b>IL28B</b>	CC: 6 (9,2 %) CT: 13 (20 %) TT: 15 (23,1 %) ND: 31 (47,7 %)	CC: 5 (7%) CT: 21 (29,6 %) TT: 7 (9,9%) ND: 38 (53,5 %)	0,1
<b>Respuesta previa</b>	Naïve: 15 (23,1%) Recidivante: 14 (21,5%) Resp. parcial: 8 (12,3%) Resp. nulo: 7(10,8%) Desconocido: 21 (32,3%)	Naïve: 16 (22,5%) Recidivante: 11 (15,5%) Resp. parcial: 9 (12,7%) Resp. nulo: 23 (32,4%) Breakthrough: 2 (2,8%) Desconocido: 10 (14,1%)	<b>0,008</b>
<b>Media Kpa</b>	21,5 (DE8,6)	24,4 (DE12,6)	0,1
<b>IMC (kg/m2)</b>	28,5 (DE4,8)	27,2 (DE4,9)	0,3

ND: no disponible, IMC: índice masa corporal, IL28B: Interleuquina 28B

#### **Parámetros analíticos de pacientes F4**

En las tablas 10 y 11 se recogen los resultados de los principales parámetros analíticos basales analizados en todos los pacientes con fibrosis grado 4 y según el tipo de tratamiento antiviral. Como era ya se ha mencionado antes, era una población de pacientes compensados.

Al igual que en la población global, los resultados analíticos de los pacientes tratados con Boceprevir eran discretamente peores en comparación con Telaprevir, siendo esto estadísticamente significativo cuando se compararon los valores de AST, ALT, fosfatasa alcalina y plaquetas.

Tabla 10 . Parámetros analíticos basales de pacientes F4 global

Variables	Total de pacientes F4 (N=136)
Plaquetas (10x3/mL)	138,9 (SD51,7)
ALT (U/L)	116 (SD83)
AST (U/L)	99 (SD64)
Bilirrubina (mg/dL)	0,9 (SD0,5)
Fosfatasa alcalina (U/L)	100 (SD46)
GGT (U/L)	128 (DE97)
Albúmina (g/dL)	4,2 (SD0,4)
INR	1,9 (SD9,3)
Colesterol (mg/dL)	162 (SD29)
HDL (mg/dL)	51 (SD19)
LDL (mg/dL)	94 (24)
Triglicéridos (mg/dL)	127 (54)
Carga viral (Log)	6,1 (SD0,7)

ALT: alanina-aminotransferasa, AST: aspartato-aminotransferasa, GGT: gammaglutamiltransferasa, INR: international normalized ratio, HDL: lipoproteína de alta densidad, LDL: lipoproteína de baja densidad

Tabla 11 . Parámetros analíticos basales de pacientes F4 tratados con Telaprevir y Boceprevir.

Variables	Tratados con TVR (N=65)	Tratados con BOC (N=71)	Valor de P
Plaquetas (10x <sup>3</sup> /mL)	151 (DE52)	128 (DE50)	<b>0,001</b>
ALT (U/L)	101 (DE59)	130 (DE99)	<b>0,004</b>
AST (U/L)	84 (DE45)	113 (DE75)	<b>0,001</b>
Bilirrubina (mg/dL)	0,9 (DE0,5)	1,0 (DE0,5)	0,2
Fosfatasa alcalina (U/L)	89 (DE32)	110 (DE54)	<b>0,001</b>
GGT (U/L)	125 (DE102)	131 (DE93)	0,7
Albúmina (g/dL)	4,2 (DE0,4)	4,1 (DE0,4)	0,3
INR	2,8 (DE13,3)	1,1 (DE0,2)	0,3
Colesterol (mg/dL)	162 (DE30)	161 (DE28)	0,9
HDL (mg/dL)	49 (DE17)	54 (DE22)	0,3
LDL (mg/dL)	93 (DE24)	88 (DE24)	0,3
Triglicéridos (mg/dL)	121 (DE35)	133 (DE70)	0,3
Carga viral (Log)	6,2 (DE0,6)	6,0 (DE0,7)	0,1

ALT: alanina aminotransferasa , AST: aspartato aminotransferasa, GGT: gammaglutamiltransferasa, INR: international normalized ratio, HDL: lipoproteína de alta densidad, LDL: lipoproteína de baja densidad

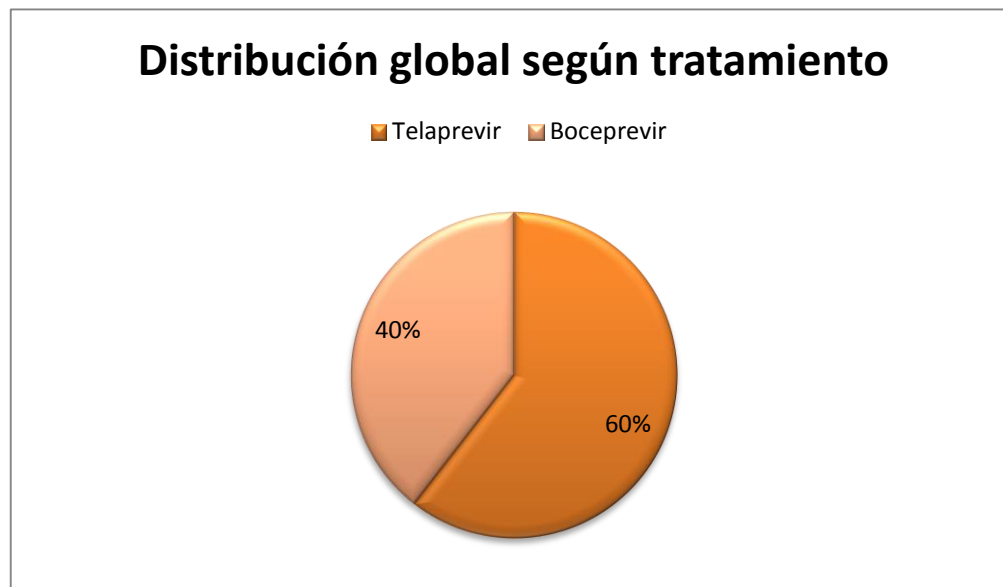


### **Características del tratamiento y eficacia:**

#### **Tratamiento recibido**

El porcentaje global de pacientes que recibió tratamiento triple con Telaprevir fue del 60,5% (n =184) y con Boceprevir del 39,5% (n =120) ( $p<0.001$ ) Ver Gráfico 2.

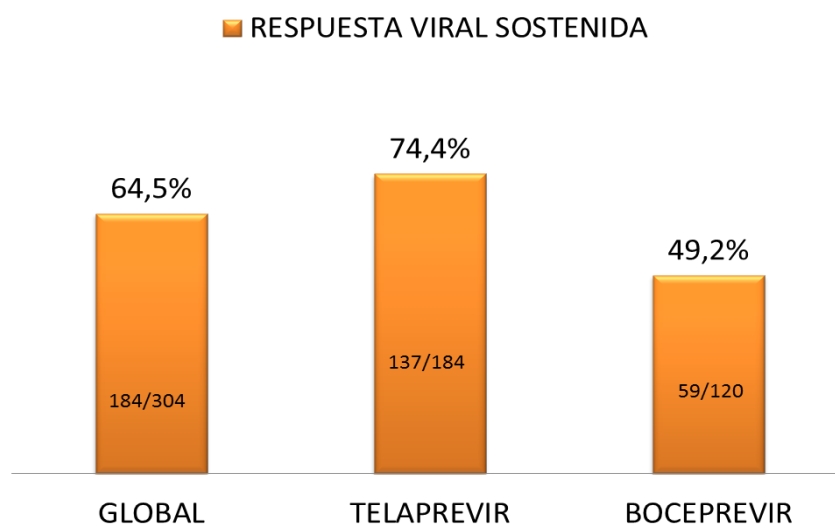
Gráfico 2. Distribución global de tratamiento con Triple terapia



#### **Respuesta viral sostenida**

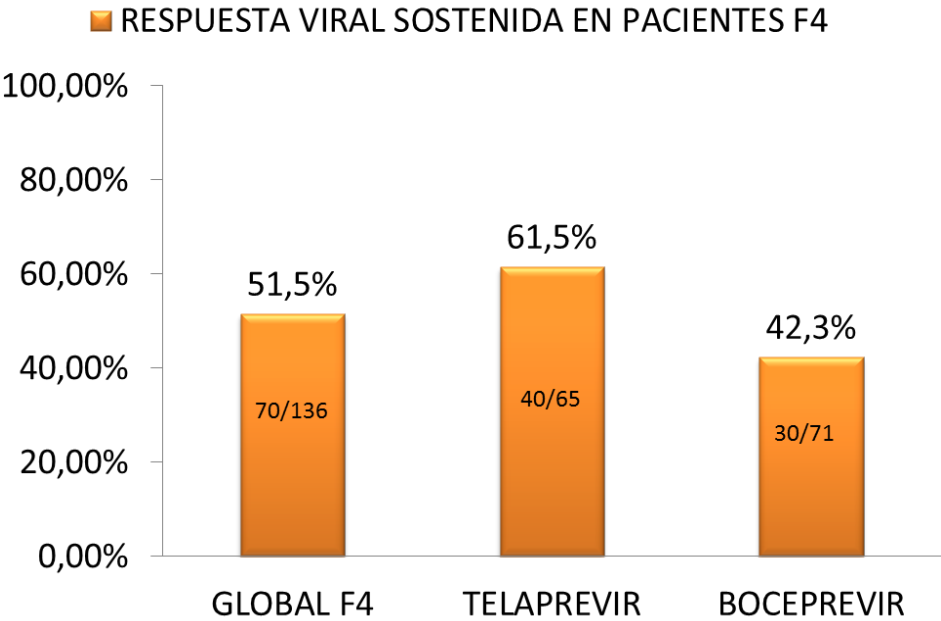
La tasa global de respuesta viral sostenida (RVS) fue del 64,5 % (n= 196/304). De forma individual, la RVS en el grupo de Telaprevir fue del 74,4% (n=137/184) y con Boceprevir del 49,2% (n= 59/120). (Gráfico 3)

Gráfico 3. RVS en pacientes con Telaprevir y Boceprevir



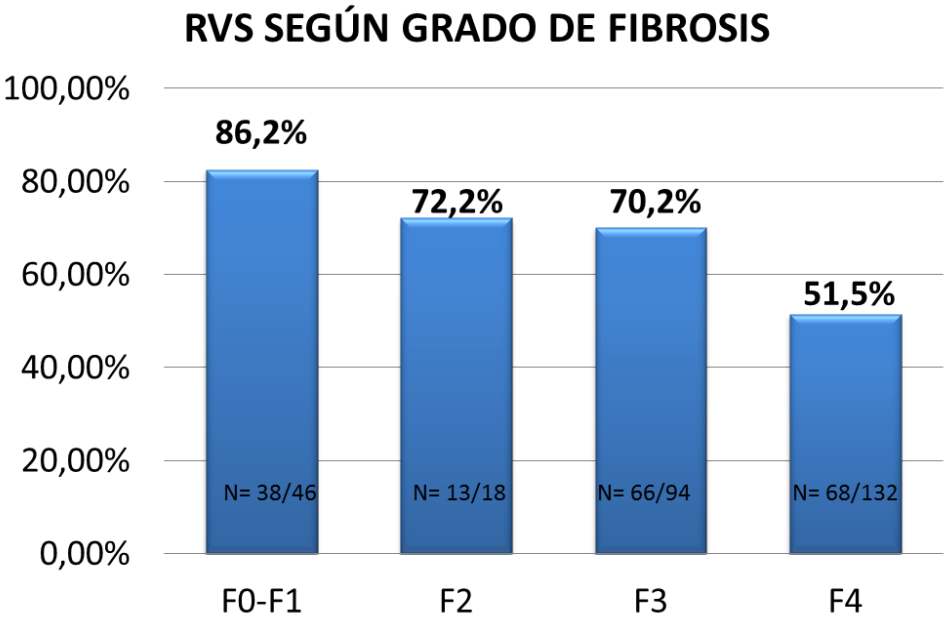
En los pacientes F4, la tasa global de RVS fue del 51,5% (n= 70/136). En los tratados con Telaprevir la RVS fue de 61,5% (n=40/65) y con Boceprevir del 42,2% (n= 30/71). (Gráfico 4)

Gráfico 4. Respuesta viral sostenida en pacientes con fibrosis F4



En el gráfico 5 se observa la RVS de los pacientes según el grado de fibrosis por Fibroscan® (n=185). El porcentaje de RVS en pacientes F0-F1 fue un 82,6 % (n=38), en F2 un 72,2 % (n=13) en F3 fue del 70,2 % (n=66) y en pacientes F4 del 51,5% (n=68).

Gráfico 5. RVS según grado de fibrosis en Triple terapia



## ***Factores asociados a la RVS***

### ***Análisis Univariado***

En la tabla 12 se detallan los resultados del análisis univariado. Cuando se analizaron los factores asociados a la RVS, se observó en el análisis univariado que los valores de GGT, bilirrubina, fosfatasa alcalina, albúmina, plaquetas, colesterol, LDL, genotipo, IL28B, el tipo de respuesta previa, valores de Elastografía y el tratamiento con Telaprevir, fueron factores que se asociaron de forma significativa con la presencia de curación virológica. En este análisis se observó que tanto la GGT (OR 0,995 (0,993-0,998) como la albúmina (OR 5,2 (2,5-10,9) tienen un impacto protector.

### ***Análisis multivariado***

Las variables que se incluyeron en el análisis multivariado se seleccionaron en función de su significación estadística tras el estudio univariado y en base a su relevancia clínica y científica. Por lo tanto, solo se incluyeron las variables analíticas basales: GGT, bilirrubina, fosfatasa alcalina, albumina, colesterol, plaquetas y valores de KPa. No se incluyó el tratamiento antiviral con Telaprevir, el tipo de respuesta previa ni la IL28B, ya que los pacientes que recibieron Boceprevir eran discretamente peores y esto podía ser un factor de confusión al momento del análisis.

En el análisis multivariado se confirma que niveles alto de albúmina (OR 3,3 (1,426-7,785) ( $p$  0.005) y niveles bajos de GGT (OR 0,996 (0,993-0,999) ( $p$ = 0,004) se relacionan con la RVS. (Tabla 12).

Tabla 12 . Factores asociados a la RVS.

<i>Variables</i>	<i>Con RVS n= 196</i>	<i>No RVS N= 108</i>	<i>Valor P</i>
<b>Edad media (años)</b>	55 (DE8,8)	56 (DE9,4)	0,7
<b>Sexo: Varón</b>	131 (63,3%)	76 (36,7%)	0,5
<b>Mujer</b>	65 (67%)	32 (33%)	
<b>Genotipo: 1</b>	62 (71,3%)	25 (28,7)	<b>0,04</b>
<b>1a</b>	18 (47,4%)	20 (52,6%)	
<b>1b</b>	116 (64,8%)	63 (35,2%)	
<b>IL28B</b>	CC: 25 (14,8%) CT: 64 (37,9%) TT: 29 (17,2%) ND: 78 (30,1%)	CC: 4 (2,4%) CT: 32 (18,9%) TT: 15 (8,9%) ND: 56 (69,8%)	<b>0,003</b>
<b>Respuesta previa:</b>			<b>&lt;0,001</b>
<b>Naïve</b>	55 (69,6%)	24 (30,4%)	
<b>Recidivante</b>	50 (75,8%)	16 (24,2%)	
<b>Respondedor parcial</b>	16 (57,1%)	12 (42,9%)	
<b>Respondedor Nulo</b>	18 (37,5%)	30 (62,5%)	
<b>Breakthrough</b>	2 (100%)	0	
<b>Media KPa</b>	14,1 (DE9)	18,9 (DE12,6)	<b>&lt;0,001</b>
<b>IMC (kg/m2)</b>	26,3 (DE4,2)	27 (DE4,5)	0,4
<b>Telaprevir</b>	137 (74,5%)	47 (25,5%)	<b>&lt;0,001</b>
<b>Boceprevir</b>	59 (49,2%)	61 (50,8%)	
<b>ALT(U/L)</b>	96 (DE78,3)	99 (DE62,6)	0,8
<b>AST(U/L)</b>	75 (DE60)	84 (DE48,5)	0,2
<b>GGT(U/L)</b>	91 (DE77,6)	136 (DE119)	<b>&lt;0,001</b>
<b>Bilirrubina(mg/dL)</b>	0,7 (DE0,4)	0,9 (DE0,53)	<b>&lt;0,001</b>
<b>Fosfatasa alcalina</b>	85 (DE32)	96(DE41)	<b>0,001</b>
<b>Albumina (g/dL)</b>	4,4 (DE0,3)	4,2 (DE0,43)	<b>&lt;0,001</b>
<b>INR</b>	1,14 (DE0,9)	2,24 (DE10,7)	0,2
<b>Plaquetas(10x3/mL)</b>	176 (DE54)	150 (DE67)	<b>&lt;0,001</b>
<b>Colesterol</b>	173(DE31)	165(DE36)	<b>0,003</b>
<b>HDL</b>	52(DE18)	55(DE17)	0,3
<b>LDL</b>	101(DE28)	90(DE33)	<b>0,05</b>
<b>Triglicéridos</b>	129(DE55)	132(DE59)	0,8
<b>Carga viral (log)</b>	6,1x106 (DE0,69)	6,2x106 (DE0,56)	0,5

ND: No disponible, IL28B: Interleuquina 28B, IMC: Índice masa corporal, ALT: alanina-aminotransferasa , AST: aspartato aminotransferasa, GGT: gammaglutamiltransferasa, INR: international normalized ratio, HDL: lipoproteína de alta densidad, LDL: lipoproteína de baja densidad

### ***Descompensación hepática***

En la cohorte global de triple terapia un 8.9% (n= 27/304) de los pacientes presentaron descompensación hepática (DH).

Para realizar el análisis de la frecuencia de descompensación, se procedió a analizar específicamente a la población de pacientes con fibrosis grado 4.

De los 136 pacientes que se incluyeron en el estudio con datos de fibrosis avanzada y/o cirrosis un total de n= 24 (17,6%) pacientes presentaron datos de descompensación hepática.

Es importante mencionar, dado que solo se analizó a la población de F4 para los datos de descompensación, un total de 3 pacientes catalogados como F3 por Fibroscan® presentaron datos de descompensación clínica, uno en forma de Ascitis y dos con Carcinoma Hepatocelular (CHC).

### ***Características basales de los pacientes que se descompensan***

La descripción de esta población está en la tabla 13. De los pacientes que se descompensan durante o después del tratamiento la mayoría fueron varones (n= 21, 87,5%), con mayor edad, con genotipo 1b (n=17, 18,3%), naïve (n= 7, 22,6%), con IL28B CT (n= 6, 17,6%), tenían valores más elevados de Kpa (24,6 vs 23,3) y habían recibido tratamiento con Boceprevir (n=18, 25,4%). De forma global la analítica de función hepática en los que se descompensan se mostró con valores de mayor insuficiencia hepática en comparación con aquellos pacientes que no se habían descompensado.

De los 24 pacientes F4 que se descompensaron, el 9,2% (n=6) ocurrió en el grupo de Telaprevir y el 25,4% (n=18) en el de Boceprevir. Probablemente esto se debió a que los pacientes que recibieron este IP, tenían una fibrosis más avanzada en comparación con el resto de pacientes.

Del total de descompensados, 13 (54,2%) ocurrieron durante el tratamiento y 11 (45,8%) tras finalizar. (Gráfico 6)

El tipo de descompensación hepática más frecuente fue la Ascitis (n= 15) seguido del Carcinoma Hepatocelular (n= 9). Un total de 33 eventos se observaron en este grupo de pacientes. (Ver Tabla 14)

Tabla 13 . Características basales de pacientes descompensados.

<b>Variables</b>	<b>Descompensados (n=24)</b>	<b>No descompensados (n=112)</b>	<b>Valor P</b>
<b>Sexo: Varón</b>	21(87,5%)	77 (68,8%)	0,06
<b>Mujer</b>	3 (12,5%)	35 (31,2%)	
<b>Edad media (años)</b>	58 (DE±10)	57 (DE±8)	0,5
<b>Genotipo: 1</b>	3 (15,8%)	16 (84,2%)	0,9
<b>1a</b>	4 (16,7%)	20 (83,3%)	
<b>1b</b>	17 (18,3%)	76 (81,7%)	
<b>Respuesta previa:</b>			0,9
<b>Naïve</b>	7 (22,6%)	24 (77,4%)	
<b>Recidivantes</b>	4 (16%)	21 (84%)	
<b>Respondedor parcial</b>	3 (17,6%)	14 (82,4%)	
<b>Respondedor nulo</b>	6 (20%)	24 (80%)	
<b>Breakthrough</b>	0 (0%)	2 (100%)	
<b>Telaprevir</b>	6 (9,2%)	59 (90,8%)	0,01
<b>Boceprevir</b>	18 (25,4%)	53 (74,6%)	
<b>Media Kpa</b>	26.4 (DE±10,7)	23.3 (DE±11.1)	0,2
<b>IL28B: CC</b>	1 (9,1%)	10 (90, 9%)	0,5
<b>CT</b>	6 (17,6%)	28 (82, 4%)	
<b>TT</b>	2 (9,1%)	20 (90, 9%)	
<b>ND</b>	15 (21,7%)	54 (78, 3%)	
<b>IMC</b>	29(DE0,6)	27,4(DE4,3)	0,2
<b>ALT(U/L)</b>	122(DE±77)	115 (DE±85)	0,7
<b>AST(U/L)</b>	128 (DE±65)	93 (DE±62)	0,002
<b>Bilirrubina (mg/dL)</b>	1,3 (DE±0,6)	0,8 (DE±0,43)	<0,001
<b>GGT (U/L)</b>	151 (DE129)	123 (DE89)	0,002
<b>Fosfatasa alcalina</b>	126 (DE59)	94 (DE40)	0,002
<b>Albúmina (g/dL)</b>	3,8 (DE±0,4)	4,2 (DE±0,3)	<0,001
<b>INR</b>	1,28 (DE±0,2)	2,14 (DE±10,2)	0,7
<b>CV basal (log)</b>	5,9x106(DE±0,8)	6,1x106(DE0,6)	0,1
<b>Plaquetas (10x3/mL)</b>	112(DE±42,4)	145(DE±52)	0,005
<b>Colesterol (mg/dL)</b>	159 (DE31)	163 (DE28,3)	0,6
<b>HDL (mg/dL)</b>	56 (DE22,4)	50,8 (DE19)	0,5
<b>LDL (mg/Dl)</b>	74 (DE21)	92 (DE23,4)	0,03
<b>Triglicéridos (mg/dL)</b>	117 (DE36)	128 (DE56,2)	0,6

ALT: Alaninoaminotransferasa, AST: Aspartateaminotransferasa, GGT: Gamma-glutamyltransferasa, INR: International Normalized Ratio, HDL: High density lipoprotein, LDL: Low density lipoprotein.

Gráfico 6. Descompensación hepática global en Triple terapia

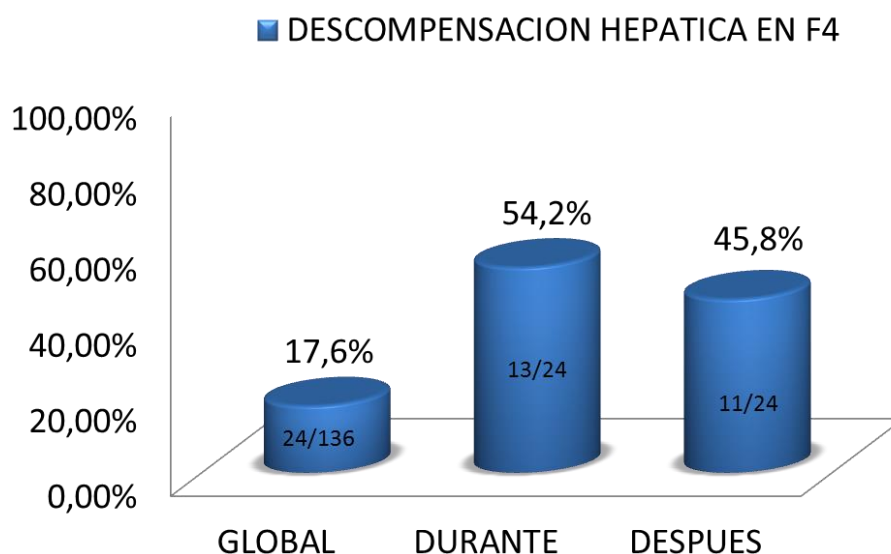


Tabla 14 . Tipo de descompensación hepática

<i><b>Descompensación</b></i>	<i><b>N de eventos</b></i>
<i><b>Ascitis</b></i>	<i><b>15</b></i>
<i><b>Encefalopatía hepática</b></i>	<i><b>3</b></i>
<i><b>HDA</b></i>	<i><b>4</b></i>
<i><b>PBE</b></i>	<i><b>2</b></i>
<i><b>Carcinoma Hepatocelular</b></i>	<i><b>9</b></i>

\* HDA: Hemorragia digestiva alta, PBE: Peritonitis bacteriana espontanea

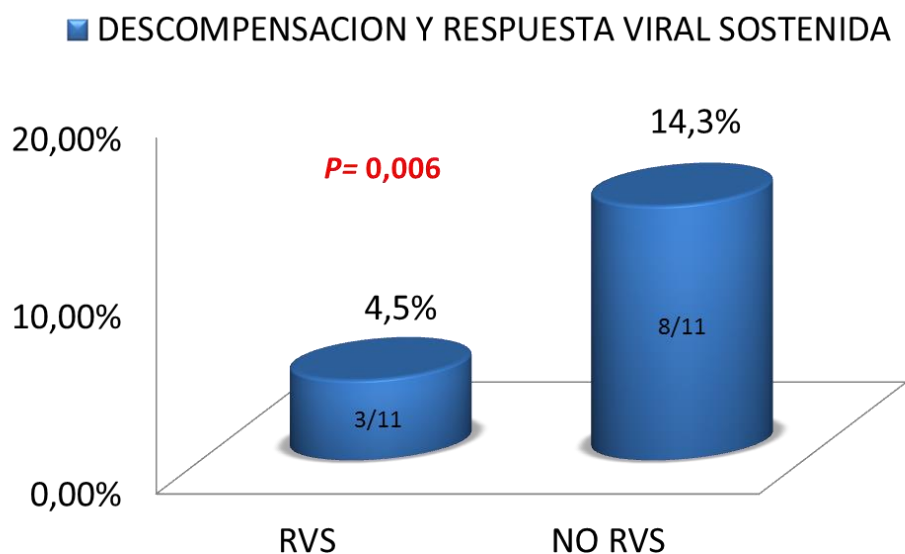
### **Respuesta viral sostenida**

El porcentaje global de RVS de los pacientes que se descompensaron fue del 25% (n= 6/24).

Para analizar el impacto de la RVS sobre los pacientes con descompensación hepática, se procedió a analizar aquellos pacientes descompensados después del tratamiento (n= 11).

Se observó que los pacientes que no logran alcanzar la RVS (n= 8) tienen más probabilidades de descompensarse en comparación con los que si alcanzan la RVS (n= 3) (4,5% RVS vs 14,3% no RVS) ( $p= 0,006$ ) y esto fue estadísticamente significativo; por lo tanto se demuestra que la RVS ejerce un impacto positivo en la descompensación hepática y a pesar de que este riesgo no llega a abolirse por completo en aquellos pacientes con RVS, es claramente menor en comparación con aquellos pacientes que no alcanzan la RVS. (Gráfico7)

Gráfico 7. Descompensación y respuesta viral sostenida



### ***Análisis Univariado***

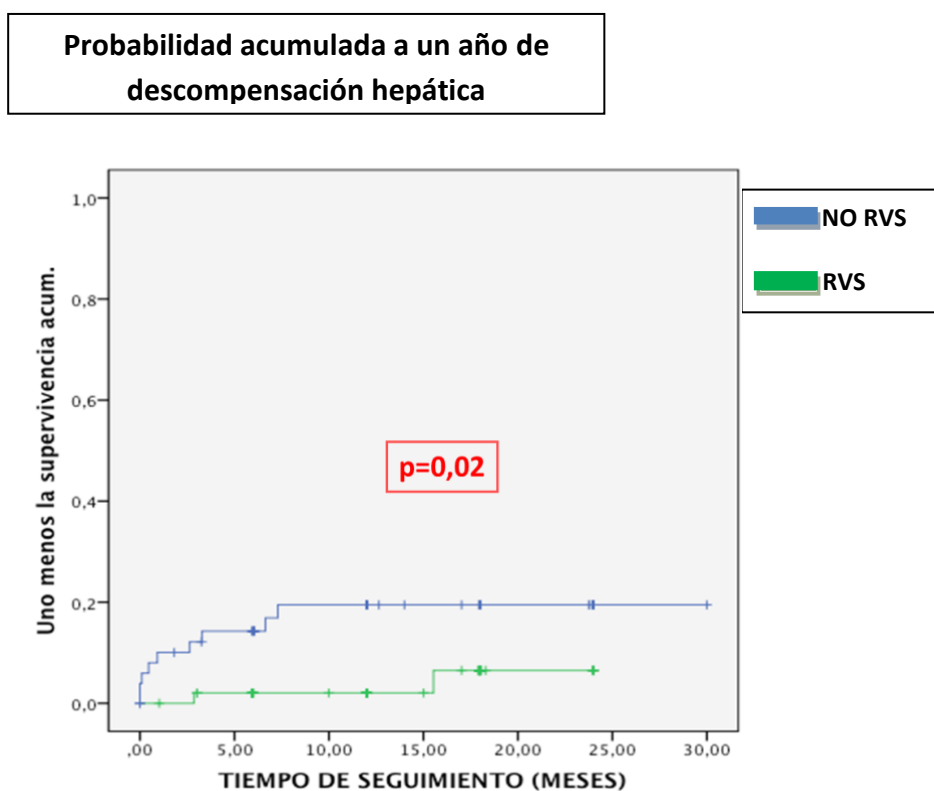
En el análisis univariado los factores que se asociaron con la descompensación hepática fueron los niveles de AST, bilirrubina, GGT, fosfatasa alcalina, albumina, LDL y plaquetas. Se observó que niveles elevados de Albumina ejercían un factor protector contra la descompensación (OR 0,008 (0,000 – 0,488) ( $p = 0,002$ )). En el análisis multivariado se confirmó que niveles elevados de AST se asocian con la descompensación (OR 1,01 (1,001–1,033) ( $p = 0,04$ )).

### ***Seguimiento***

El seguimiento que recibieron los pacientes desde el inicio del tratamiento hasta el episodio de descompensación hepática o final de seguimiento (Trasplante hepático o muerte) fue de 24,6 meses (3-43 meses). La probabilidad acumulada de DH a 1 año post tratamiento fue (4,3% RVS vs 16,3% No-RVS) ( $p = 0,02$ ) se muestra en el gráfico 8.



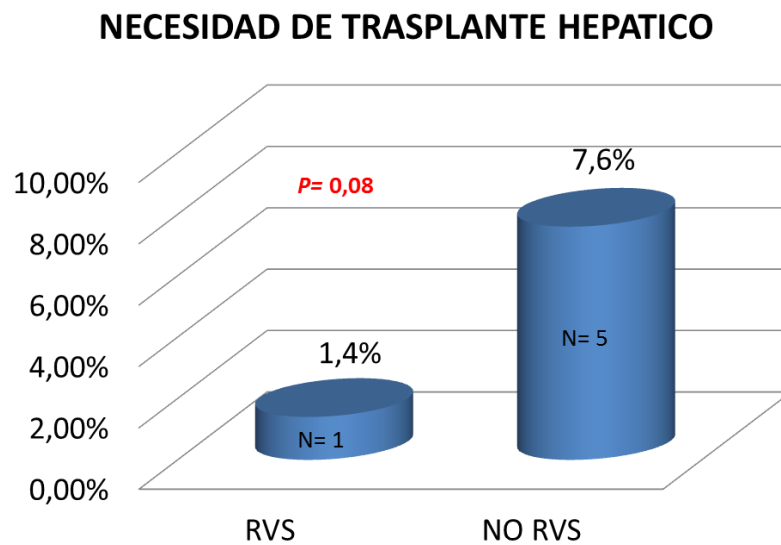
Gráfico 8. Probabilidad acumulada de descompensación hepática en Triple terapia



Un total de 6 (4,4%) pacientes requirieron trasplante hepático y 4 pacientes (2,9%) fallecieron después de haber terminado el tratamiento; dos de causa hepática (Hemorragia por Varices esofágicas y Encefalopatía Hepática) y 2 de causa no hepática (Infarto agudo al miocardio). Todas las muertes ocurrieron en pacientes que no habían alcanzado la RVS ( $p=0,04$ ).

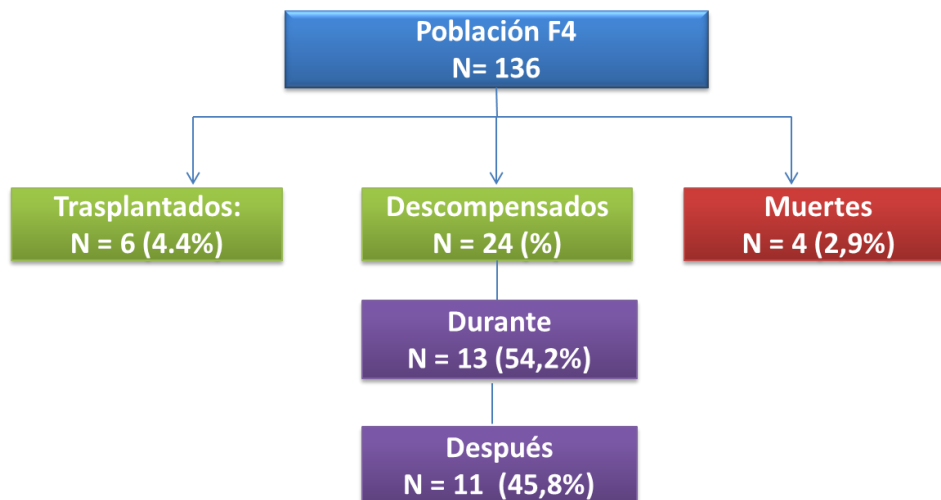
En el grupo de pacientes F4 con RVS ( $n=70$ ) la necesidad de TH fue significativamente menor en comparación con el grupo de no RVS (1,4% ( $n=1$ ) RVS vs 7,6% ( $n=5$ ) No-RVS) ( $p=0,08$ ) (Gráfico 9).

Gráfico 9. Necesidad de trasplante hepático en Triple terapia



En el gráfico 10 se resumen los eventos clínicos ocurridos en la población de pacientes F4.

Gráfico 10. Resumen de eventos clínicos en pacientes F4 tratados con Triple terapia



## Mejoría de la elastografía hepática

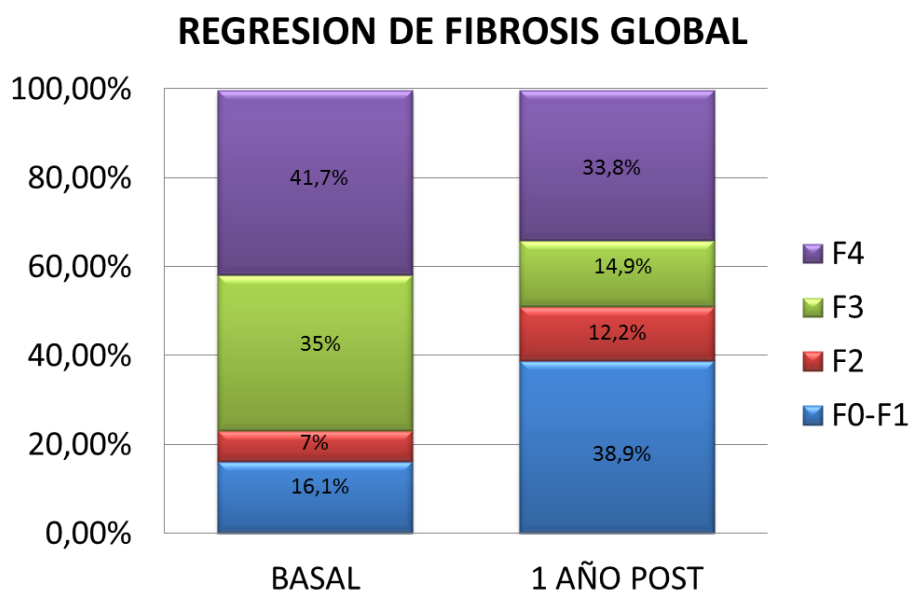
El segundo objetivo de este estudio fue analizar el impacto de la RVS sobre la mejoría en la rigidez hepática medida por Elastografía de transición o Fibroscan® tras 1 año de finalización del tratamiento.

Del total de los 304 pacientes incluidos en el estudio, 254 tenían datos elastográficos basales y al año post tratamiento. Para esos 254 pacientes, la distribución basal del grado de fibrosis fue de la siguiente manera: F0-F1 un total de 41 (16,1%) pacientes, con F2 n= 18 (7%), con F3 n= 89 (35%) y con F4 n= 106 (41,7%).

Cuando se realizó la Elastografía al año de haber finalizado el tratamiento se observó que había un total de 99 (38,9%) pacientes con F0-F1, con F2 un total de n= 31 (12,2%) pacientes, con F3 n= 38 (14,9%) y con F4 un total de n= 86 (33,8%) pacientes.

Los cambios de elastografía basales y tras 1 año post tratamiento se resumen en el gráfico 11.

Gráfico 11. Mejoría de la rigidez hepática en la población global



Cuando se analizaron los cambios en la rigidez hepática en pacientes con un Fibroscan® basal de F4 (n= 106), se observó que tras un año de tratamiento el 64,2% (n=68) continuaron siendo F4, el 17,9% (n=19) pasaron a ser F3, el 6,6% (n=7) fueron F2 y el 11,3% (n=12) terminaron siendo F0-F1. De los pacientes con F3 basal (n= 89), el 18% (n=16) continuaron siendo F3, el 20,2% (n=18) pasaron a F2, el 41,5% (n=37) pasaron F0-1 y el 20,2% (n=18) evolucionaron a F4.

En resumen, se observó que el porcentaje inicial de pacientes F4 fue del 41,7% reduciéndose después del tratamiento a un 33,8%. Esta disminución también se observó en el grupo de pacientes con F3, reduciéndose de un 35% a un 14,9%, siendo esto estadísticamente significativo.

De modo que, de manera global se puede decir que la rigidez hepática mejoró en el 45,3% (n=115) de los pacientes, en el 44% (n=112) permaneció igual y en el 10,6% (n=27) empeoró.

En esos 115 pacientes en los que mejoró la elastografía hepática, 100 (57,1%) tenían RVS vs 15 (19%) No-RVS) ( $p<0,001$ ). Por lo tanto, la RVS impacta de forma positiva en la rigidez hepática medida por Elastografía de transición o Fibroscan®.

No se observó significancia estadística con el empeoramiento de la rigidez hepática en las variables de: sexo, edad, HTA, DM, varices esofágicas, IL28B, repuesta previa a doble terapia, glucemia, ALT, AST, GGT, FA, bilirrubina, colesterol, HDL, LDL, triglicéridos, albumina, INR, carga viral y plaquetas. A pesar de esto, si se observó que los pacientes en los que empeoró mostraron discretamente valores más elevados de AST y GGT.

Cuando se analizó la disminución de KPa post tratamiento se observó que la media de KPa disminuyó con respecto al basal, siendo esto estadísticamente significativo (15,3 (SD10, 8) vs 13,2 (SD11, 7) ( $p<0,001$ ). Además en los pacientes que alcanzan una RVS, se produjo una disminución significativa de los valores de la elastografía (20,0(SD15) RVS vs 9,9(SD8,2)No-RVS) ( $p<0,001$ )

## **COHORTE B: PACIENTES TRATADOS CON ANTIVIRALES DE ACCIÓN DIRECTA (AAD) CON O SIN RIBAVIRINA**

En esta cohorte de pacientes tratados con distintas combinaciones de Antivirales de Acción Directa (AAD) con o sin Ribavirina, se incluyeron un total de N= 282 pacientes. Del total de los incluidos, se excluyeron 48 pacientes por historia previa de descompensación hepática. Los tipos de descompensación clínica presentada en los pacientes excluidos fueron: Ascitis (n= 28), Hemorragia Digestiva Alta (n= 12), Encefalopatía hepática (n=11), Carcinoma Hepatocelular (n= 9), Peritonitis Bacteriana Espontanea (n=4).

### ***Características basales de la población global***

Se detallan en la tabla 15. En esta cohorte de AAD la mayoría de los pacientes fueron varones (58.5%), con una media de edad de 58 (DE10) años, un 60% tenía genotipo 1b, seguido del 1a y 3 (17.9% y 8.1%) respectivamente. En esta cohorte, la determinación de la IL28B no se realizó en el 85,5% (n= 200) de los pacientes, debido a que no era imprescindible, por no ser un factor predictor basal de respuesta al tratamiento; que si lo era en los que recibían interferón. En los pacientes que si la tenían, el polimorfismo CT fue el más frecuente (n= 22, 9.4%).

Más del 70% de los pacientes recibieron las combinaciones de: Ombitasvir + Paritaprevir/Ritonavir ± Dasabuvir ± Ribavirina (3D/2D) (n= 103, 44%) y Sofosbuvir/Ledipasvir ± Ribavirina (n= 69, 29,5%). En el gráfico 12 se detallan los diferentes regímenes recibidos. Los pacientes recibieron distintas combinaciones de antivirales de acción directa con una duración máxima entre 3 y 6 meses. El tipo de tratamiento antiviral y la duración fue prescrito en base al genotipo, a la presencia o no de cirrosis y a la disponibilidad comercial de estos fármacos en un inicio.

Debido a que los antivirales de acción directa han sido la última novedad de tratamiento antiviral para la hepatitis C, muchos de los pacientes ya habían recibido tratamientos con interferón en doble o triple terapia. Para los pacientes que solo habían recibido doble terapia, la respuesta previa más predominante fue la de respondedores nulos (n=65, 27,8%). En cambio en el grupo de triple terapia en su mayoría fueron pacientes naïve (n=183, 78,2%).

El dato de Fibroscan® basal estuvo presente en el 99,1% (n=232/234) de los pacientes, correspondiendo solo a pacientes con F4 el 60,2% (n= 141) de la población. Un 15% (n= 35) correspondió a pacientes F0-F1, un 16,7% (n= 39) a F2 y un 8.1% (n= 17) a pacientes con F3.

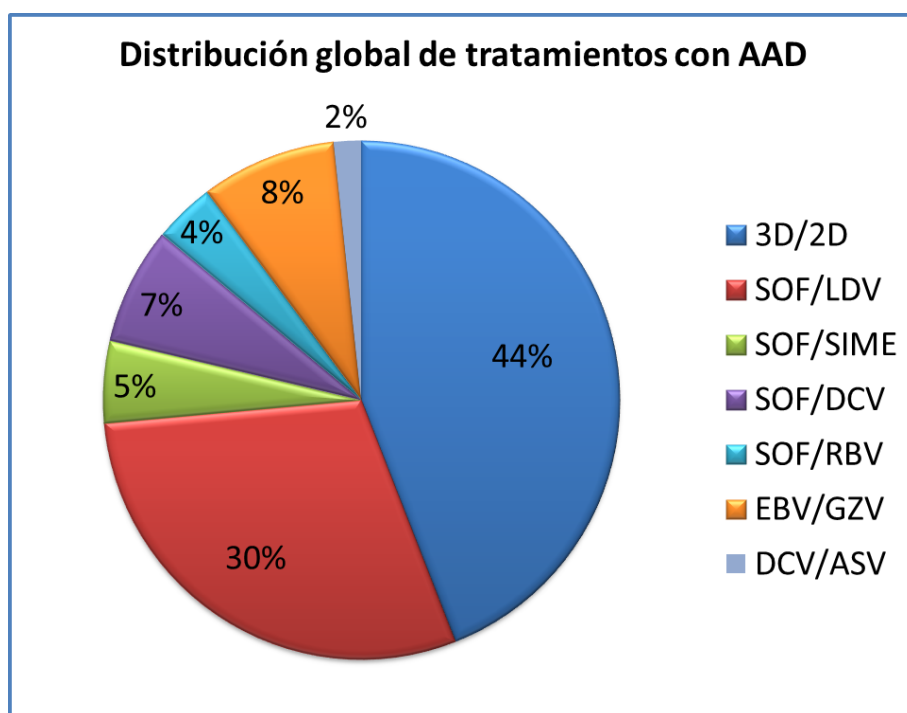
La media de KPa de la población global fue de 16,7 (DE11, 2).

Tabla 15. Características basales de la población global.

<b>Variables</b>	<b>Total de pacientes incluidos (N=234)</b>
<b>Edad media (24-80 años)</b>	58 (DE10)
<b>Sexo: Varón</b>	137 (58,5%)
<b>Mujer</b>	97 (41,5%)
<b>Genotipo:</b>	
<b>1</b>	2 (0.9%)
<b>1a</b>	42 (17.9%)
<b>1b</b>	147 (62.8%)
<b>2</b>	5 (2.1%)
<b>3</b>	19 (8.1%)
<b>4</b>	15 (6.4%)
<b>5</b>	4 (1.7%)
<b>Genotipo IL28B</b>	CC: 5 (2.1%) CT: 22 (9.4%) TT: 7 (3%) ND: 200 (85.5%)
<b>Tratamiento antiviral</b>	
<b>Paritaprevir/ritonavir + Ombitasvir ± Dasabuvir ± RBV</b>	103 (44%)
<b>Sofosbuvir + Ledipasvir ± RBV</b>	69 (29,5%)
<b>Sofosbuvir + Simeprevir ± RBV</b>	12 (5,1%)
<b>Sofosbuvir + Daclatasvir ± RBV</b>	17 (7.3%)
<b>Elbasvir + Grazoprevir ± RBV</b>	20 (8.5%)
<b>Sofosbuvir + Ribavirina</b>	9 (3,8%)
<b>Daclatasvir + Asunaprevir ± RBV</b>	4 (1.7%)
<b>Respuesta previa a doble terapia:</b>	Naïve: 111 (47.4%) Recidivante: 47 (20.1%) Respondedor parcial: 11 (4.7%) Respondedor nulo: 65 (27.8%)
<b>Respuesta a triple terapia: (BOC/TVR/SIME/FALD)</b>	Naïve: 183 (78.2%) Recidivante: 25 (10.7%) Respondedor nulo: 2 (0.9%) Breakthrough: 6 (2.6%) Fallo de LEAD-IN: 15 (6,4%) Suspendido por EA: 3(1.3%)
<b>Estadio de Fibrosis</b>	
<b>F0-F1:</b>	35 (15%)
<b>F2:</b>	39 (16,7%)
<b>F3:</b>	17 (8,1%)
<b>F4:</b>	141 (60,3%)
<b>Media Kilopascuales (Kpa)</b>	16,7 (DE11.2)

RBV: Ribavirina, BOC: Boceprevir, TVR: Telaprevir, SIM: Simeprevir, FALD: Faldaprevir, EA: Efecto adverso

Gráfico 12. Distribución global de tratamiento con AAD



#### ***Parámetros analíticos basales de la población global***

Con la finalidad de homogeneizar ambas cohortes, en este grupo también se analizaron los mismos parámetros analíticos que se han mencionado en la cohorte A. Igualmente correspondió a una población de pacientes con enfermedad hepática compensada. Se observó una media de Bilirrubina de 0,9 (SD0.77), albumina 4,2 (SD0, 37), INR de 1,1(SD0, 14), plaquetas 167 (SD72.9). La media de carga viral basal oscilaba en torno a 6 logaritmos. (Ver tabla 16)

Tabla 16. Parámetros analíticos basales de la población global.

<b>Variables</b>	<b>Total de pacientes incluidos (N=234)</b>
<b>Plaquetas (10x<sup>3</sup>/mL)</b>	167 (DE72,9)
<b>ALT (U/L)</b>	89 (DE65)
<b>AST (U/L)</b>	79 (DE54)
<b>Bilirrubina (mg/dL)</b>	0,9 (DE0,77)
<b>Fosfatasa alcalina (U/L)</b>	92 (DE42)
<b>GGT (U/L)</b>	109 (DE112)
<b>Albúmina (g/dL)</b>	4,2 (DE0,37)
<b>INR</b>	1,1 (DE0,14)
<b>Creatinina (mg/dL)</b>	1,2 (DE5,3)
<b>Colesterol (mg/dL)</b>	162(DE34)
<b>HDL (mg/dL)</b>	51 (DE17)
<b>LDL (mg/dL)</b>	90 (DE30)
<b>Triglicéridos (mg/dL)</b>	105 (64)
<b>Carga viral (Log)</b>	6,5 (DE6,7 )

ALT: Alanino-aminotransferasa, AST: Aspartato-aminotransferasa, GGT: Gamma-glutamilttransferasa, INR: International Normalized Ratio, HDL: High density lipoprotein, LDL: Low density lipoprotein.

#### **Características basales de pacientes F4**

Se detallan en la tabla 17. Del total de los 234 pacientes incluidos, 141 eran F4. Todos fueron catalogados con fibrosis F4 por Elastografía de transición o Fibroscan® con valores de KPa ≥ 13,2.

En este subgrupo la media de edad fue de 60 años con una desviación estándar de ± 9. El 60% de los pacientes eran varones (n= 84) y un 40% mujeres (n= 57). El 80% de los pacientes fueron genotipo 1 (n= 113) con predominio del subtipo 1b (n= 88, 62.4%), seguido del genotipo 3 (n= 12, 8.5%).



A diferencia de la cohorte A, debido a que el genotipo de la IL28B no era indispensable para el tratamiento con AAD hasta un 90% (n= 127) de los pacientes F4 no tenía este resultado; en los que si la tenían el polimorfismo CT (5%, n= 7) fue el más frecuente.

De los 141 F4, el 40,4% (n= 57) recibió tratamiento con Paritaprevir/ritonavir + Ombitasvir ± Dasabuvir ± Ribavirina (3D/2D), un 34,8% (n= 49) recibió Sofosbuvir + Ledipasvir ± Ribavirina, el 9,2% (n=13) Sofosbuvir + Daclatasvir ± Ribavirina, el 6,4% (n=9) Sofosbuvir + Simeprevir ± Ribavirina, un 5% (n=7) Elbasvir + Grazoprevir ± Ribavirina, el 3,5% (n=5) Sofosbuvir + Ribavirina y un 0,7% (n=1) Daclatasvir + Asunaprevir. (Ver gráfico 13)

La mayoría de los pacientes eran naïves antes de recibir los AAD en ambos grupos (doble y triple terapia) (n= 54, 38,3% y n= 104, 73,8%) respectivamente. En los pacientes que habían recibido un tratamiento previo con doble terapia después de los naïves le seguían en frecuencia los respondedores nulos (n= 48, 34%) y en los tratados con triple terapia, seguido de los naïve estaban los pacientes con fallo a lead in previo (n= 14, 9,9 %).

La media de KPa en esta población de F4 fue de 22,7 (DE0, 7).

Gráfico 13. Distribución global de tratamiento con AAD en pacientes F4

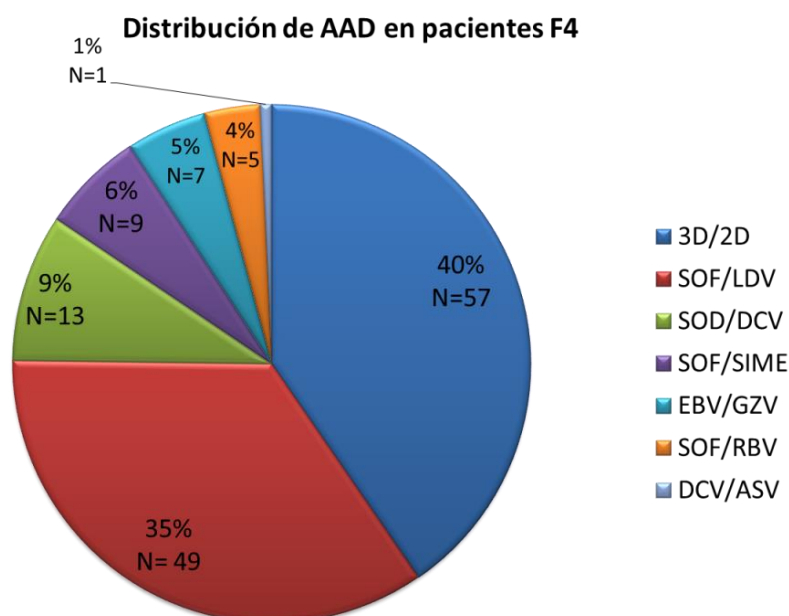


Tabla 17. Características basales de pacientes F4.

<b>Variables</b>	<b>Total de pacientes F4 (n= 141)</b>
<b>Edad media (años)</b>	60 (DE9)
<b>Sexo: Varón</b>	84 (59,6%)
<b>Mujer</b>	57 (40,4%)
<b>Genotipo:</b>	
<b>1a</b>	25(17,7%)
<b>1b</b>	88 (62,4%)
<b>2</b>	4 (2,8%)
<b>3</b>	12 (8,5%)
<b>4</b>	9 (6,4%)
<b>5</b>	3 (2,1%)
<b>Genotipo IL28B</b>	CC: 3 (2,1 %) CT: 7 (5 %) TT: 4 (2,8 %) ND: 127 (90,1 %)
<b>Respuesta previa a doble terapia:</b>	Naïve: 54 (38,3%) Recidivante: 29 (20,6%) Respondedor Parcial: 10 (7,1%) Respondedor Nulo: 48 (34%) Breakthrough: 2 (1,5%)
<b>Respuesta previa a triple terapia:</b>	Naïve: 104 (73,8%) Recidivante: 13 (9,2%) Respondedor Nulo: 1 (0,7%) Breakthrough: 6 (4,3%) Fallo LEAD-IN: 14 (9,9%) Suspendido por EA: 3 (2,1%)
<b>Tratamiento antiviral</b>	
<b>3D/2D ± RBV</b>	57 (40,4%)
<b>Sofosbuvir + Ledipasvir ± RBV</b>	49 (34,8%)
<b>Sofosbuvir + Simeprevir ± RBV</b>	9 (6,4%)
<b>Sofosbuvir + Daclatasvir ± RBV</b>	13 (9,2%)
<b>Elbasvir + Grazoprevir ± RBV</b>	7 (5%)
<b>Sofosbuvir + Ribavirina</b>	5 (3,5%)
<b>Daclatasvir + Asunaprevir ± RBV</b>	1 (0,7%)
<b>Media Kilopascales</b>	22,7 (DE10,7)

ND: no disponible, IL28B: Interleuquina 28B, EA: Efectos adversos, RBV: Ribavirina

Los resultados de los principales parámetros analíticos analizados en todos los pacientes con fibrosis grado 4 se recogen en la tabla 18.

En estos pacientes la media de Bilirrubina fue de 1,03 (SD0.5), de Albúmina 4.1 (SD0.4) y de INR 1.1 (SD 0,14), compatibles con una población compensada.

Tabla 18. Parámetros analíticos basales de pacientes con fibrosis grado 4.

<i><b>Variables</b></i>	<i><b>Total de pacientes F4 (N=141)</b></i>
<i><b>Plaquetas (10x<sup>3</sup>/mL)</b></i>	<i><b>139 (SD61)</b></i>
<i><b>ALT (U/L)</b></i>	<i><b>102 (SD66)</b></i>
<i><b>AST (U/L)</b></i>	<i><b>95 (SD52)</b></i>
<i><b>Bilirrubina (mg/dL)</b></i>	<i><b>1,03 (SD0,59)</b></i>
<i><b>Fosfatasa alcalina (U/L)</b></i>	<i><b>106 (SD45)</b></i>
<i><b>GGT (U/L)</b></i>	<i><b>127 (DE117)</b></i>
<i><b>Albúmina (g/dL)</b></i>	<i><b>4,1 (SD0,4)</b></i>
<i><b>INR</b></i>	<i><b>1,1 (SD0,14)</b></i>
<i><b>Colesterol (mg/dL)</b></i>	<i><b>158 (SD35)</b></i>
<i><b>HDL (mg/dL)</b></i>	<i><b>51 (SD19)</b></i>
<i><b>LDL (mg/dL)</b></i>	<i><b>86 (29)</b></i>
<i><b>Triglicéridos (mg/dL)</b></i>	<i><b>109 (DE74)</b></i>
<i><b>Carga viral (Log)</b></i>	<i><b>6,5 (SD6,8)</b></i>

ALT: alanina-aminotransferasa, AST: aspartato-aminotransferasa, GGT: gammaglutamiltransferasa, INR: international normalized ratio, HDL: lipoproteína de alta densidad, LDL: lipoproteína de baja densidad

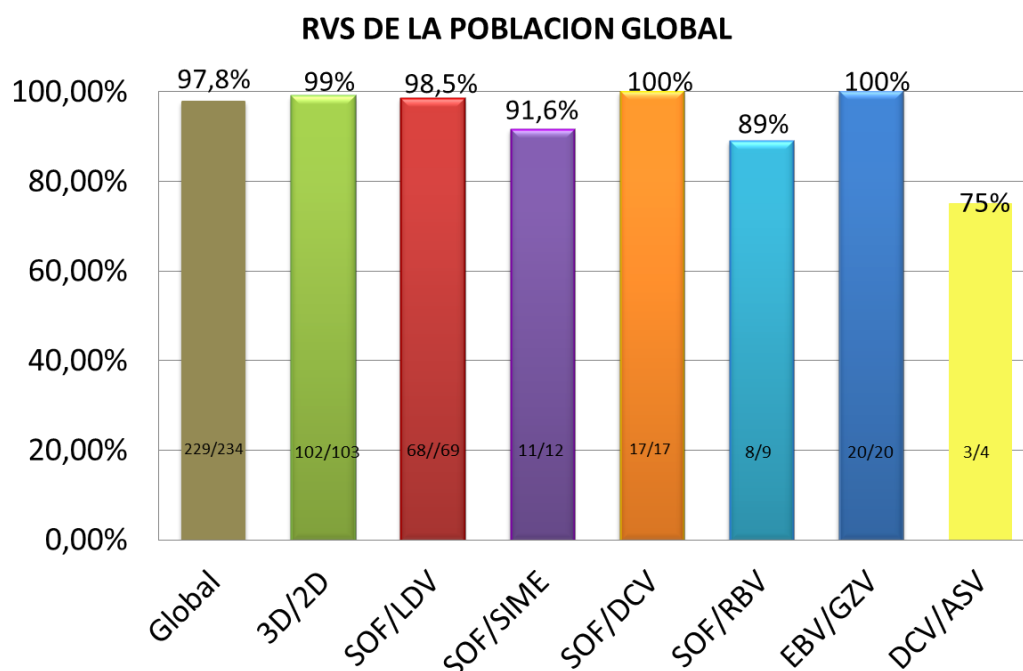
### **Respuesta viral sostenida**

La tasa global de RVS observada en esta cohorte fue del 97,8%.

Un total de n= 229/234 pacientes respondieron a las distintas combinaciones de tratamiento con AAD. De forma individual se observó que la tasa de RVS en los pacientes que recibieron la combinación Ombitasvir + Paritaprevir/Ritonavir ± Dasabuvir (3D/2D) fue del 99 % (n=102/103), en los tratados con Sofosbuvir +Ledipasvir ± Ribavirina 98,5% (n= 68/69), Sofosbuvir + Simeprevir ± Ribavirina 91,6% (n= 11/12), Sofosbuvir + Daclatasvir ± Ribavirina

100% (n= 17/17), Elbasvir + Grazoprevir ± Ribavirina 100% (n= 20/20), Sofosbuvir + Ribavirina 88,8% (n= 8/9) y Daclatasvir + Asunaprevir ± Ribavirina 75% (n= 3/4). No hubo diferencias significativas entre los grupos de tratamiento (p=0,2) (Ver Gráfico 14)

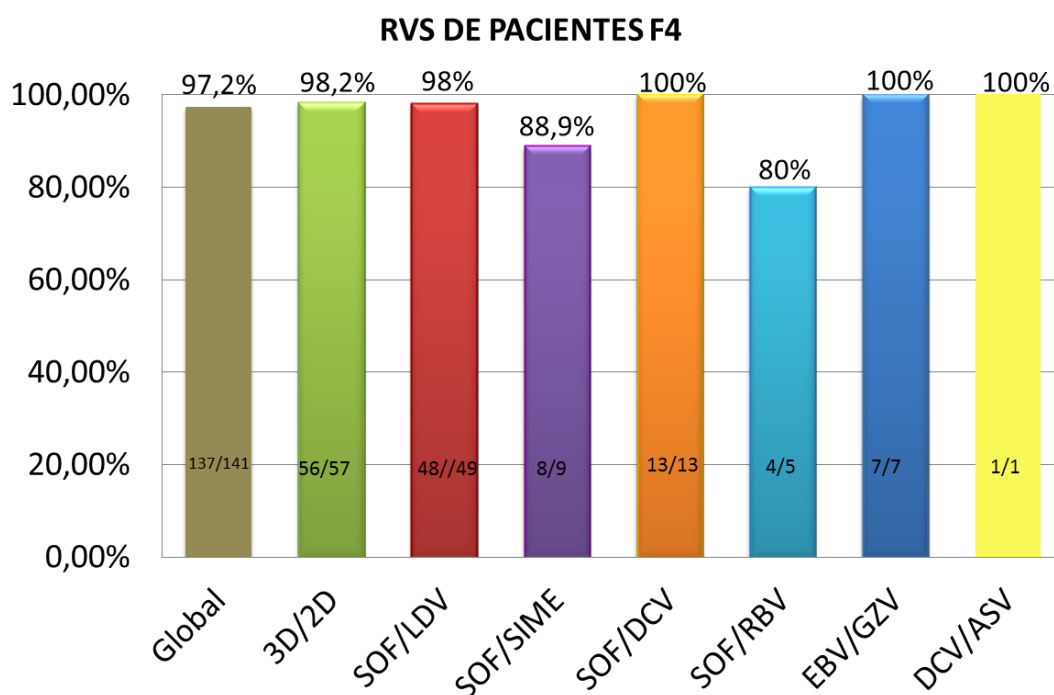
Gráfico 14. RVS en población global con AAD



En los pacientes con fibrosis F4, la tasa global de RVS fue del 97,2% (n= 137/141).

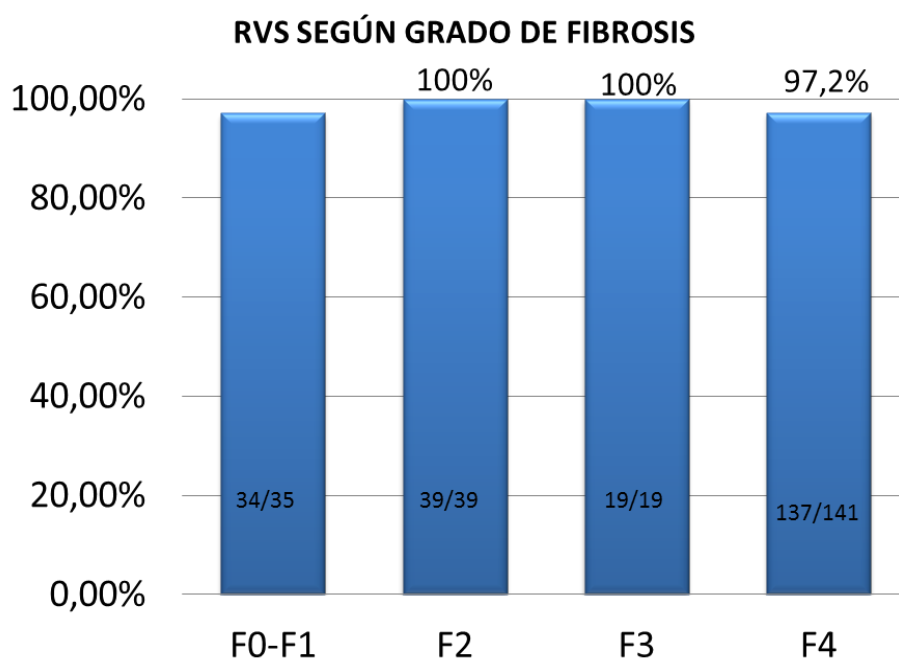
Cuando se desglosa en los F4 la RVS por tipo de tratamiento en aquellos pacientes que recibieron la combinación de Ombitasvir + Paritaprevir/Ritonavir ± Dasabuvir ± Ribavirina (3D/2D) una tasa de RVS del 98,2% (n= 56/57), con Sofosbuvir + Ledipasvir ± Ribavirina del 98% (n= 48/49), Sofosbuvir + Simeprevir ± Ribavirina del 88,9% (n= 8/9), Sofosbuvir + Daclatasvir ± Ribavirina del 100% (n= 13/13), Sofosbuvir + Ribavirina del 80% (n= 4/5), Daclatasvir + Asunaprevir ± Ribavirina del 100% (n= 1/1) y con Elbasvir + Grazoprevir ± Ribavirina del 100% (n= 7/7). (Ver gráfico 15).

Gráfico 15. RVS en pacientes F4 con AAD



Cuando se analizó la RVS en los pacientes sin cirrosis, se observó que la tasa de RVS en los pacientes F0-F1 fue del 97,1% (n= 34/35), en pacientes F2 del 100% (n= 39/39) y en pacientes F3 fue del 100% (n= 19/19). No existiendo diferencias significativas entre los diferentes grados de fibrosis ( $p=0,6$ ). Ver gráfico 16

Gráfico 16. RVS según grado de fibrosis en AAD



### ***Análisis Univariado***

Cuando se analizó en la cohorte global (n=234) los factores asociados a la respuesta viral sostenida se observó en el análisis univariado a la Fosfatasa alcalina ( $p= 0,001$ ), la GGT ( $p= 0,01$ ) y curiosamente a la encefalopatía hepática (OR 0,26 (0,002-0,377) ( $p= <0,001$ ) como factores estadísticamente significativos asociados a la curación virológica (Ver tabla 19). Hubo una tendencia con la albumina, el genotipo y el tipo de respuesta previa a triple terapia.

### ***Análisis multivariado***

Se incluyeron en el análisis multivariado a las variables según su significación estadística en el análisis univariado. En el análisis multivariado se confirma que los niveles de fosfatasa alcalina (OR 0,95- 0,999) ( $p <0,005$ ) se relacionan con la RVS.

Tabla 19. Factores asociados a la RVS.

Variables	Con RVS n= 229	No RVS N= 5	Valor P
<b>Edad media (años)</b>	58 (DE9)	57 (DE14)	0,8
<b>Sexo: Varón</b>	134 (97,8%)	3 (2,2%)	0,9
<b>Mujer</b>	95 (97,9%)	2 (2,1%)	
<b>Genotipo: 1</b>	2 (100%)	0	0,1
<b>1a</b>	42 (100%)	0	
<b>1b</b>	143 (97,3%)	4 (2,7%)	
<b>2</b>	4 (80%)	1 (20%)	
<b>3</b>	19 (100%)	0	
<b>4</b>	15 (100%)	0	
<b>5</b>	4 (100%)	0	
<b>IL28B: CC</b>	5 (100%)	0	0,8
<b>CT</b>	22 (100%)	0	
<b>TT</b>	7 (100%)	0	
<b>Respuesta previa a doble terapia:</b>	108 (97,3%)	3 (2,7%)	0,9
<b>Naïve</b>	46 (97,6%)	1 (2,1%)	
<b>Recidivante</b>	11 (100%)	0	
<b>Respondedor parcial</b>	64 (98,5%)	1 (1,5%)	
<b>Respuesta previa a triple terapia:</b>	180 (98,4%)	3 (1,6%)	0,1
<b>Naïve</b>	25 (100%)	0	
<b>Recidivante</b>	2 (100%)	0	
<b>Respondedor nulo</b>	5 (83,3%)	1 (16,7%)	
<b>Breakthrough</b>	14 (93,3%)	1 (6,7%)	
<b>Fallo LEAD-IN</b>	3 (100%)	0	
<b>Tratamiento antiviral:</b>	102 (98,2%)	1 (1,8%)	0,2
<b>Paritaprevir/ritonavir+Ombitasvir±Dasabuvir±RBV</b>	68 (98,5%)	1 (1,5%)	
<b>Sofosbuvir + Ledipasvir ± RBV</b>	11 (91,6%)	1 (8,4%)	
<b>Sofosbuvir + Simeprevir ± RBV</b>	17 (100%)	0	
<b>Sofosbuvir + Daclatasvir ± RBV</b>	20 (100%)	0	
<b>Elbasvir + Grazoprevir ± RBV</b>	8 (80%)	1 (20%)	
<b>Sofosbuvir + Ribavirina</b>	3 (75%)	1 (25%)	
<b>Daclatasvir + Asunaprevir ± RBV</b>			
<b>Media Kpa</b>	22,6 (DE10,6)	25 (DE13,8)	0,6
<b>Descompensados</b>	12 (92,3%)	1 (7,7%)	0,2
<b>No descompensados</b>	217 (98,2%)	4 (1,8%)	
<b>Descompensación:</b>	2 (100%)	0	0,8
<b>Ascitis</b>	2 (66,7%)	1 (33,3%)	<0,001
<b>Encefalopatía H.</b>	1 (100%)	0	0,8
<b>Hemorragia variceal</b>	0	0	
<b>PBE</b>	10 (90,9%)	1 (9,1%)	0,08
<b>CHC</b>			
<b>ALT (U/L)</b>	102 (DE67)	89 (DE41)	0,7
<b>AST (U/L)</b>	94 (DE53)	107(DE47)	0,5
<b>Fosfatasa alcalina (U/L)</b>	104 (DE42)	176(DE93)	0,001
<b>GGT (U/L)</b>	122 (DE99)	286(DE392)	0,01
<b>Bilirrubina (mg/dL)</b>	1,02 (DE0,58)	1,5(DE0,69)	0,3
<b>Albumina (g/dL)</b>	4,1 (DE0,4)	3,8(DE0,4)	0,2
<b>INR</b>	1,1 (DE0,14)	1,2(DE0,08)	0,4
<b>Plaquetas (10x<sup>3</sup>/mL)</b>	140 (DE41)	124 (DE76)	0,5
<b>Carga viral (log)</b>	6,4 (DE6,8)	6,8 (DE6,9)	0,3

ALT: alanino-aminotransferasa, AST: aspartato-aminotransferasa, GGT: gammaglutamiltransferasa, INR: international normalized ratio, HDL: lipoproteína de alta densidad, LDL: lipoproteína de baja densidad

#### ***Descompensación hepática en pacientes F4***

La tasa de descompensación global en la cohorte de AAD fue del 5,5% (n=13/234).

Al igual que en la cohorte A, para el análisis de frecuencia de descompensación hepática se analizó solo a la población de pacientes F4. Como ya se ha comentado antes, un total de 13 pacientes se descompensaron, de estos, 11 eran cirróticos y los 2 restantes eran pacientes catalogados como F2 y F3 por Fibroscan®. Ambos presentaron como descompensación clínica un Carcinoma Hepatocelular.

Por lo tanto, en la población de F4 la tasa de descompensación fue del 7,8% (n= 11/141)

#### ***Características basales de los pacientes que se descompensan***

Las características basales de los pacientes descompensados se describen en la tabla 20. Como ya se mencionó en el párrafo previo, globalmente se descompensaron un total de 13 (5,5%), pacientes, 11 (84,6%) de ellos cirróticos. Se describirán las características basales de esos 11 pacientes F4 descompensados.

Los pacientes que se descompensaron tenían mayor edad, en su mayoría fueron varones (n= 7/11, 63,6%) y el 54,5% tenían genotipo 1b (n= 6/11). Un 11,8% (n=2) habían recibido Sofosbuvir + Daclatasvir y un 8,7% (n=6) habían sido tratados con Sofosbuvir + Ledipasvir ± Ribavirina.

De forma global la analítica de función hepática y los valores de Elastografía de transición se mostraron peores en los pacientes que se descompensan en comparación con aquellos pacientes que no se habían descompensado.



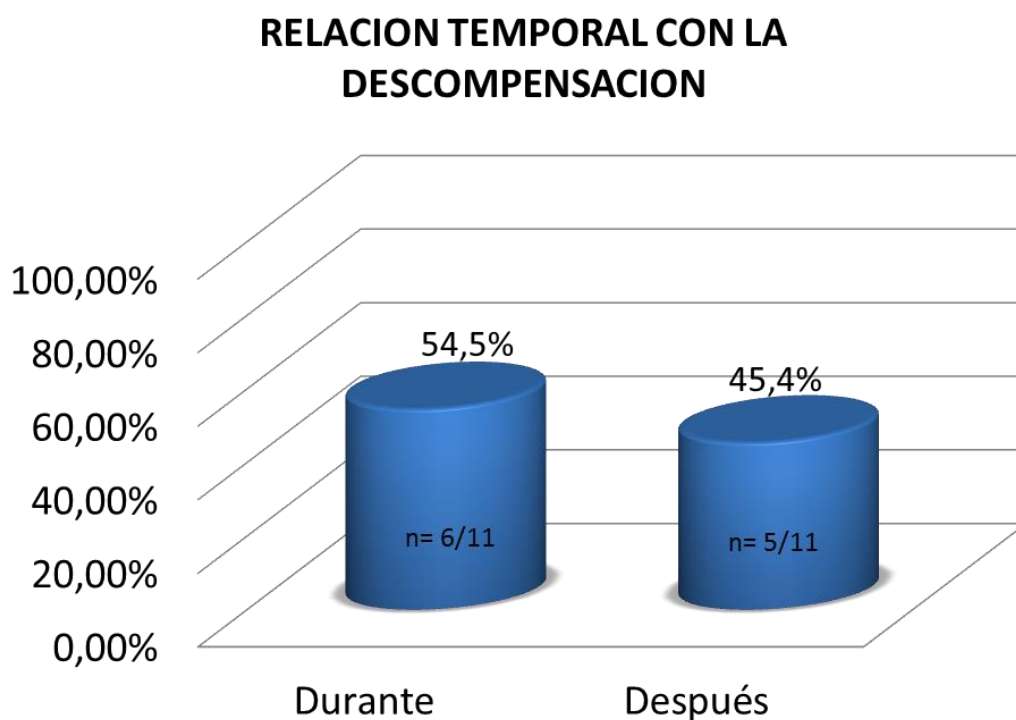
Tabla 20. Características basales de pacientes descompensados

<b>Variables</b>	<b>Descompensados (n=11)</b>	<b>No descompensados (n=223)</b>	<b>Valor P</b>
<b>Edad media (años)</b>	64 (SD7,3)	58 (SD±10)	0,06
<b>Sexo: Varón</b>	7 (5,1%)	130 (94,9%)	0,7
<b>Mujer</b>	4 (4,1%)	93 (95,9%)	
<b>Genotipo: 1</b>	0	2 (100%)	0,4
<b>1a</b>	2 (4,8%)	40 (95,2%)	
<b>1b</b>	6 (4,1%)	141 (95,9%)	
<b>2</b>	0	5 (100%)	
<b>3</b>	2 (10,5%)	17 (89,5%)	
<b>4</b>	0	15 (100%)	
<b>5</b>	1 (25%)	3 (75%)	
<b>Respuesta previa doble :</b>			0,2
<b>Naïve</b>	6 (5,4%)	105 (94,6%)	
<b>Recidivantes</b>	4 (8,5%)	43 (91,5%)	
<b>Respondedor parcial</b>	1 (9,1%)	10 (90,9%)	
<b>Respondedor nulo</b>	0	65 (100%)	0,03
<b>Respuesta previa triple :</b>			
<b>Naïve</b>	8 (4,4%)	175 (95,6%)	
<b>Recidivantes</b>	0	25 (100%)	
<b>Respondedor nulo</b>	0	2 (100%)	
<b>Breakthrough</b>	2 (33,3%)	4 (66,7%)	
<b>LEAD IN</b>	1 (6,7%)	14 (93,3%)	
<b>Suspendido por EA</b>	0	3(100%)	0,2
<b>IL28B: CC</b>	1 (20%)	4 (80%)	
<b>CT</b>	0	22 (100%)	
<b>TT</b>	1 (14, 3%)	6 (85, 7%)	
<b>ND</b>	9 (4, 5%)	191 (95,5%)	
<b>Tratamiento antiviral:</b>			0,9
<b>3D/2D ±RBV</b>	2 (1, 9%)	101 (98, 1%)	
<b>SOF+LDV±RBV</b>	6 (8, 7%)	63 (91, 3%)	
<b>SOF+SIME±RBV</b>	1 (8, 3%)	11 (91,6%)	
<b>SOF+DCV ±RBV</b>	2 (11,8%)	15 (88,2%)	
<b>EBV + GZV±RBV</b>	0	20 (100%)	
<b>SOF + RBV</b>	0	9 (100%)	
<b>DCV+ASV±RBV</b>	0	4 (100%)	
<b>Grado de fibrosis</b>			0,05
<b>F0-F1</b>	0	35 (100%)	
<b>F2</b>	0	39 (97,4%)	
<b>F3</b>	0	19 (94,7%)	
<b>F4</b>	11 (7,8%)	130 (92,2%)	
<b>ALT (U/L)</b>	79 (SD38)	90 (SD67)	0,6
<b>AST (U/L)</b>	108 (SD37)	77 (SD55)	0,7
<b>GGT (U/L)</b>	165 (DE241)	107 (DE102)	0,001
<b>FA (U/L)</b>	138 (DE68)	90 (DE39)	0,001
<b>Bilirrubina (mg/dL)</b>	1,4 (SD0,9)	0,9 (SD0,7)	0,03
<b>Albúmina (g/dL)</b>	3,8 (SD0,4)	4,2 (SD0,4)	<0,001
<b>INR</b>	1,12 (SD0,13)	1,07 (SD0,1)	0,3
<b>CV basal (log)</b>	6,3x10 <sup>6</sup> (SD6,7)	7,4x10 <sup>6</sup> (SD67)	0,8
<b>Plaquetas (10x<sup>3</sup>/mL)</b>	133(SD89)	168(SD71)	0,002
<b>Media Kpa</b>	28,7 (SD22)	16,1(SD11)	0,001
<b>RVS</b>	10 (90, 9%)	219 (98, 2%)	0,2

ALT: alanino-aminotransferasa, AST: aspartato-aminotransferasa, GGT: gammaglutamiltransferasa, INR: international normalized ratio, HDL: lipoproteína de alta densidad, LDL: lipoproteína de baja densidad

De los 11 pacientes cirróticos que se descompensan, un total de 6/11 (54,5%) lo hicieron durante el tratamiento y 5/11 (45,4%) tras el seguimiento. (Gráfico 17) La forma de descompensación del 90% (n=10/11) de los pacientes que se descompensaron fue con un Carcinoma hepatocelular; cinco durante el tratamiento y 5 en el seguimiento.

Gráfico 17. Relación temporal con la descompensación



Ocurrieron 16 eventos de descompensación hepática, que se describen en la tabla 21. Cabe destacar que hubo 3 pacientes que presentaron al menos 2 eventos de descompensación hepática, siendo el primer episodio, el Carcinoma Hepatocelular.

Los eventos clínicos observados en los pacientes fueron: Ascitis n= 2, (1 durante y 1 después), Encefalopatía hepática n= 3 (1 durante el tratamiento y 2 en el seguimiento), Hemorragia digestiva por varices n= 1 (en el seguimiento), Carcinoma Hepatocelular n= 10 (5 durante el tratamiento y 5 después).

Cuando se analizó la descompensación en los distintos regímenes de tratamientos se observó que el mayor número absoluto de descompensaciones ocurrió en el grupo de pacientes tratados con Sofosbuvir + Ledipasvir (n= 6/69, 8,7%), no siendo esto estadísticamente significativo. A pesar de que en el grupo de Sofosbuvir + Daclatasvir (n= 2/17, 11,8%) el porcentaje fue mayor, el número de pacientes en este grupo fue menor. Otra combinación recibida en los pacientes que se descompensaron fue la combinación 3D/2D (n= 2/103, 1,9%). En el resto de combinaciones no hubo datos de descompensación hepática.

Tabla 21. Numero de eventos clínicos

<i>Tipo de descompensaciones</i>	<i>Total de eventos</i>
<i>Ascitis</i>	<i>2</i>
<i>Encefalopatía hepática</i>	<i>3</i>
<i>HDA</i>	<i>1</i>
<i>PBE</i>	<i>0</i>
<i>Carcinoma hepatocelular</i>	<i>10</i>

\* HDA: Hemorragia digestiva alta, PBE: Peritonitis bacteriana espontanea

### ***Respuesta viral sostenida***

La tasa global de RVS en los pacientes que se descompensan fue del 90,9% (n= 10/11) versus la RVS de los que se mantuvieron compensados fue del 98,2% (n= 219/223) (OR 0,221 IC95% 0,002 – 2,13) ( $p= 0,2$ ).

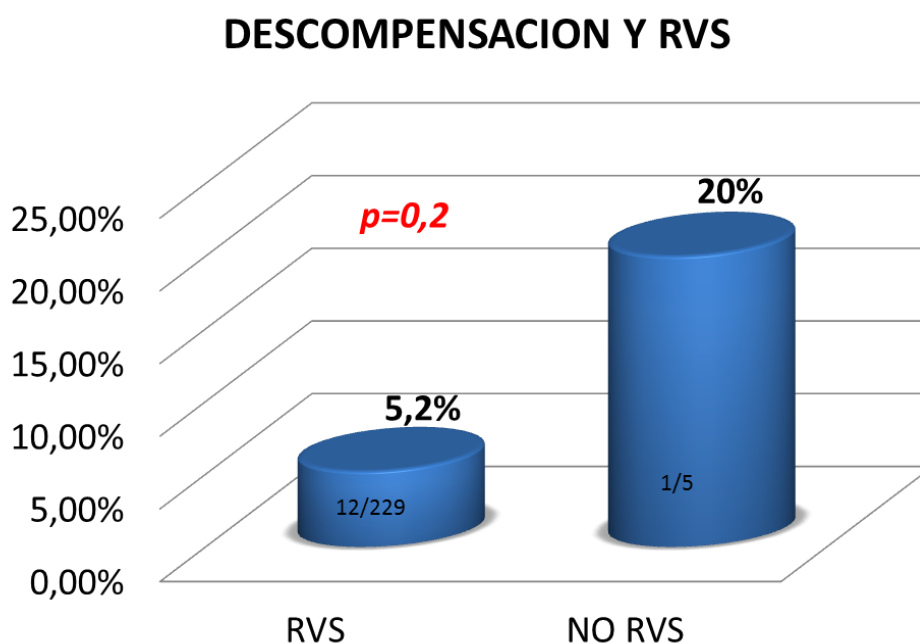
En relación con la RVS y la descompensación durante o después del tratamiento, se observó que la RVS de los pacientes que se descompensan durante el tratamiento fue del 100% (n=6/6) versus la RVS de los pacientes que se descompensan después del tratamiento del 80% (n=4/5) ( $p= 0,3$ ) OR [IC95% 1,2 (0,84-1,72).

Cuando se analizó la RVS de los pacientes que se descompensan en el seguimiento vs los que no se descompensan, se observó que un 80% (n=4/5) de los descompensados en el seguimiento alcanza la RVS versus un 97,8% (133/136) los que no se descompensan ( $p=0,01$ ) siendo esto estadísticamente significativo.

De los 141 pacientes F4, 4 (2,8%) no lograron alcanzar la RVS, de estos 4, solo un paciente se descompensa (n= 1/4 ,25%) ( $p= 0,001$ ).

Cuando se analizó la descompensación en el grupo de pacientes con RVS (n=229) y sin RVS (n=5), se observó que los pacientes que no logran alcanzar la RVS tienen mayores probabilidades de descompensarse en comparación con los que si se curan (5,2% RVS vs 20% No RVS) no siendo estadísticamente significativo ( $p= 0,2$ ) OR IC95% 0,23 (0,02-2,48) (gráfico 18).

Gráfico 18. Descompensación y respuesta viral sostenida



#### ***Análisis Univariado***

Cuando se realizó el análisis univariado se observó que el tener mayor edad, el no haber recibido un tratamiento previo, valores más elevados de fibrosis y de KPa, de GGT, de fosfatasa alcalina, bilirrubina, niveles más bajos de albumina y de plaquetas fueron los factores que se asociaron con la descompensación hepática.

#### ***Análisis multivariado***

En el multivariado se confirma que la respuesta previa a tratamiento con doble terapia ( $p=0,042$ ) (OR 0,19-0,96) y niveles más elevados de bilirrubina ( $p=0,043$ ) (OR 1,026-0,5471) se relacionan con la descompensación hepática.

#### ***Seguimiento de los pacientes***

Todos los pacientes de esta cohorte ( $n=234$ ) con o sin respuesta viral sostenida, tuvieron un seguimiento tanto clínico como serológico durante una media de 24 meses. El final de seguimiento se delimitó al trasplante hepático o la muerte en aquellos que habían completado el seguimiento post tratamiento hasta mayo 2015.

El tiempo transcurrido desde el inicio del tratamiento hasta el primer episodio de descompensación hepática o final de seguimiento (Trasplante hepático o muerte) fue de una mediana de 7,7 meses (DE5, 42) (0.9-14.8). La probabilidad acumulada de descompensación

hepática 1 año post- tratamiento fue de 1,6% pacientes RVS vs 33,7% No RVS ( $p < 0,05$ ) (Gráfico 19).

En el grupo de RVS la necesidad de TH fue significativamente menor que en el grupo de no RVS (1.1% vs 6.8%) ( $p = 0.05$ ) (Gráfico 20). Solo un paciente ( $n = 1/141$  (0,7%) requirió trasplante hepático y había alcanzado la RVS. Tres pacientes ( $n = 3/141$ , (2,1%) fallecieron tras finalizar el tratamiento; dos de causa hepática con Encefalopatía hepática y Hemorragia Digestiva Alta por varices esofágicas (Ambos F4). En estos dos pacientes la primera descompensación fue el CHC) y uno de causa no hepática por Edema Agudo de Pulmón (F0-F1). De estos 3 pacientes fallecidos solo 1 no había alcanzado la RVS (F4).

Gráfico 19. Probabilidad acumulada de descompensación hepática en AAD

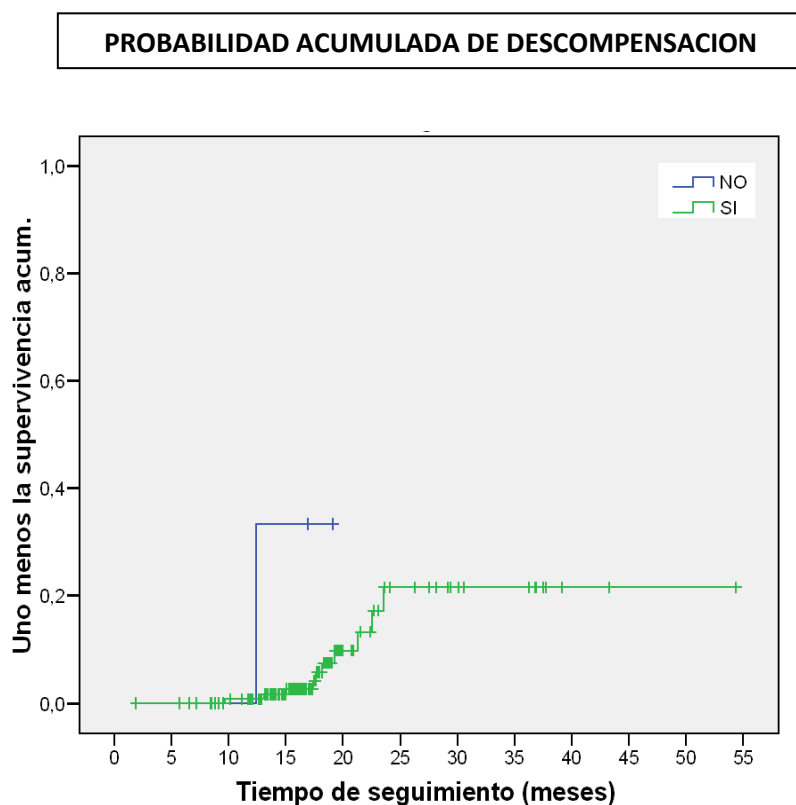
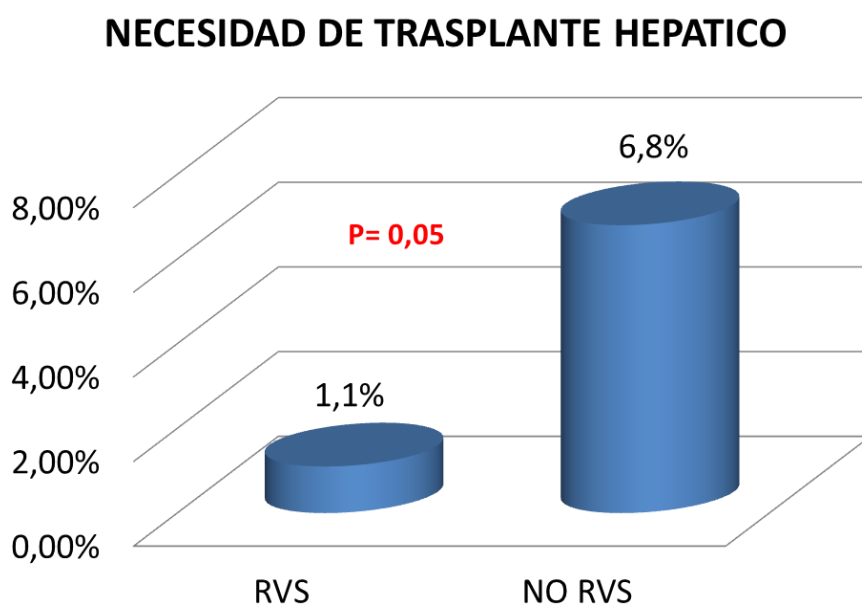


Gráfico 20. Necesidad de trasplante hepático

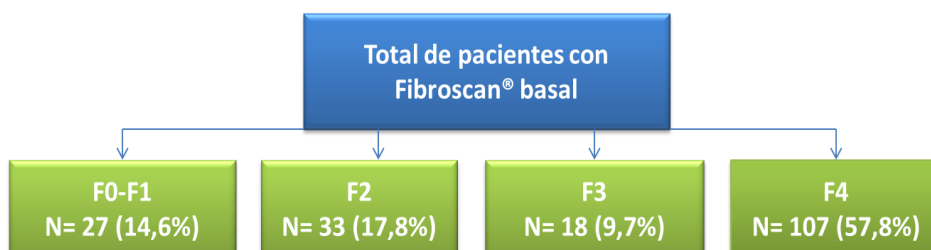


#### Mejoría de la Elastografía hepática

Cuando se analizó el impacto de la RVS en la mejoría de la rigidez hepática medida por elastografía de transición o Fibroscan® tras 1 año de finalización del tratamiento, se observó que del total de los 234 pacientes incluidos en esta cohorte, 185 (79,1%) tenían datos elastográficos basal y al año post tratamiento. De estos 185 pacientes con Fibroscan basal y 1 año post tratamiento, un total de 184 habían alcanzado una RVS.

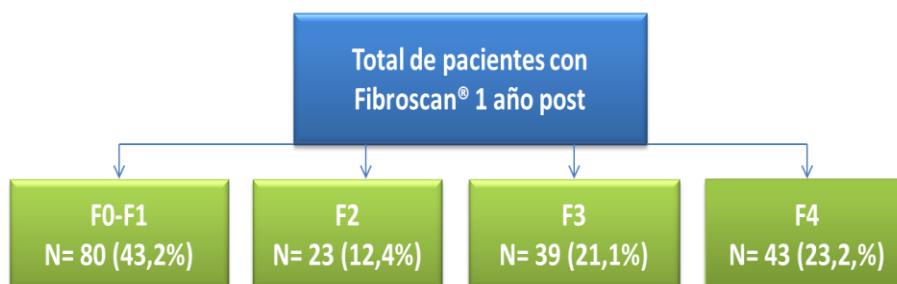
De este total de 185 pacientes, básicamente un 14,6% (n= 27) tenían F0-F1, un 17,8% (n=33) tenía F2, un 9,7% (n= 18) era F3 y F4 un 57,8% (n= 107) (Ver gráfico 21).

Gráfico 21. Distribución global de Fibroscan basal en AAD



Tras la realización del Fibroscan® 1 año post tratamiento, se observó un 43,2% (n= 80) de F0-F1, un 12,4% (n= 23) de F2, un 21,1% (n= 39) de F3 y un 23,2% (n= 43) de pacientes con F4. (Ver gráfico 22).

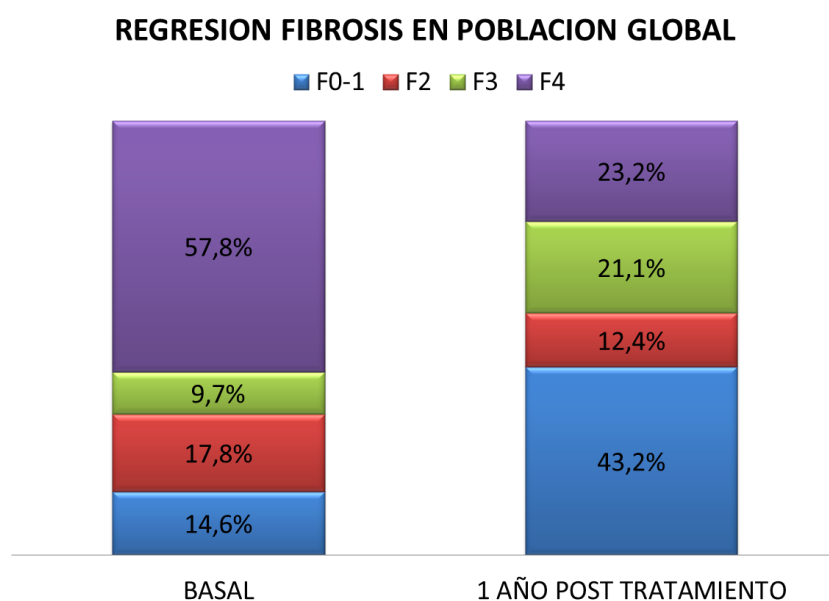
Gráfico 22. Distribución de Fibroscan un año post tratamiento



De manera global se observó que la rigidez hepática tras 1 año de tratamiento mejoró en el 82,7% (n= 153) de los pacientes, no se modificó en el 1,6% (n=3) y empeoró en el 15,7% (n=29) (p= 0,9).

Cuando se analizó la mejoría en la rigidez hepática medida por Fibroscan® en los F4 basales, se observó que un 40,1% (n=43) continuó siendo F4, un 33,6% (n=36) paso a tener un F3, un 13% (n=14) pasó a tener un F2 y un 13% (n=14) alcanzó el F0-1. De tal manera que la evolución en el Fibroscan® de pacientes F4 inicialmente fue del 57,8% reduciéndose después del tratamiento a un 23,2% (p= <0,001) (IC95% 1,86-3,32). De los pacientes con F3 basal, el 16,6% (n=3) continuaron siendo F3, el 5,5% (n=1) paso a ser F2 y el 77,7% (n=14) pasaron a F0-1 y ningún paciente evolucionó a F4. Los cambios de elastografía se resumen en el gráfico 23.

Gráfico 23. Mejoría de la rigidez hepática población global



La mediana de mejoría en los KPa de pacientes con RVS fue de 7,15(DE6, 1) (0,10-33Kpa).

En el 15,7% de los pacientes a los que les empeora la rigidez hepática, la media de empeoramiento fue de 3,2 KPa (DE4, 9) (0,10-18Kpa), alcanzando todos la RVS. Cuando se analizó a la población de pacientes en las que mejora la rigidez hepática (n=153/185), se observó que 152/153 tenían RVS y que la mejoría de la rigidez hepática basal y final fue de (7,15 KPa con RVS *versus* 1 KPa de los No RVS) (p= 0,3).

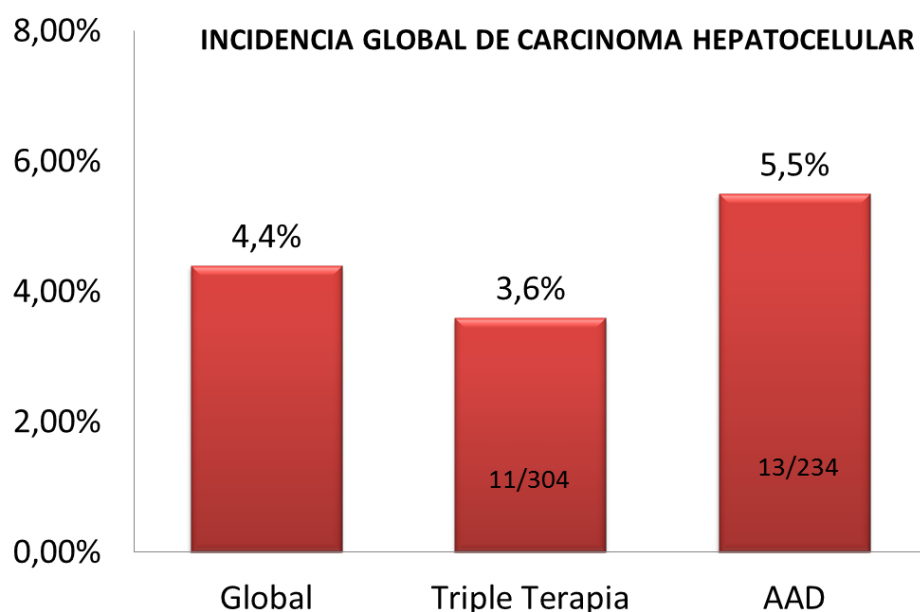


## ANALISIS GLOBAL DE LA INCIDENCIA DEL CARCINOMA HEPATOCELULAR

En este apartado analizaremos en ambas cohortes los factores que se asociaron con la aparición de novo de Carcinoma hepatocelular (CHC). Todos los pacientes incluidos en este estudio tenían realizada una prueba de imagen al menos 3 meses antes de iniciar el tratamiento antiviral, confirmando la ausencia de nódulos sospechosos. El diagnóstico de CHC se realizó por criterios radiológicos (captación en fase arterial y lavado en fase venosa) en técnicas de imagen por Resonancia magnética y/o Tomografía axial computarizada. En aquellos pacientes que no cumplían estos criterios por imagen, el diagnóstico se realizó por confirmación histopatológica en cada centro.

De los 538 pacientes que se incluyeron en el estudio, se observó una incidencia global de CHC en toda la cohorte del 4,4% (n=24/538). Un 3,6% (n= 11/304) en triple terapia y un 5,5% (n= 13/234) en AAD. Con un seguimiento medio de 24 meses. (Gráfico 24)

Gráfico 24. Incidencia global de Carcinoma hepatocelular



Cuando se desglosa la tasa de incidencia del CHC por pacientes Cirróticos y No cirróticos; se observó que en los cirróticos de la cohorte de triple terapia la tasa de incidencia fue del 6,6% (n= 9/136) y en no cirróticos fue de 1,2% (n= 2/168). En los pacientes cirróticos de la cohorte de AAD la tasa de incidencia del CHC fue del 7,0% (n= 10/141), y en no cirróticos 2,1% (n= 2/93), no siendo estadísticamente significativo. (p= 0,9). En uno de los pacientes con cáncer no se disponía de datos de fibrosis basal.

Cuando se analizó la aparición del CHC y su relación temporal en cada cohorte, observamos que en la cohorte de TT la incidencia a los 12 meses fue del 1,1% (3/275), entre 12 y 18 meses

aparecieron (7/217) del 3,2 % y entre los 18 y 24 meses del 0.7 % (1/140). En esta cohorte Un 91%, 74,3% y 46% de los pacientes tuvieron un seguimiento a los 12, 18 y 24 meses respectivamente.

En la cohorte de AAD, la incidencia a los 12 meses fue del 4,2% (9/213), entre 12 y 18 meses aparecieron 4 nuevos casos, 3,8 % (4/104) y entre los 18 y 24 meses no apareció ningún caso más. En esta cohorte un 93%, 47% y un 18% de los pacientes tuvieron un seguimiento a los 12, 18 y 24 meses respectivamente.

El tiempo medio de aparición del CHC desde el inicio del tratamiento antiviral en pacientes tratados con TT fue de 14 meses (DE0, 69) (rango: 5 meses-36meses) y en la cohorte de AAD fue de 7 meses (DE5) (rango: 31 días-14 meses).

### **Características basales de pacientes con Carcinoma Hepatocelular**

En las tablas 22 y 23 se detallan las características basales de los pacientes que desarrollaron CHC en la cohorte TT y AAD respectivamente. La descripción de los resultados en la cohorte de AAD, se realizó sobre 12 pacientes, ya que 1 paciente estuvo perdido del seguimiento.

En la cohorte TT, la edad media de los pacientes que desarrollaron CHC fue mayor en comparación con los que no lo desarrollan (61 vs 55), fueron todos varones, el 80% fueron cirróticos y presentaron peores valores analíticos basales y de elastografía en comparación con los que no desarrollan CHC.

En la cohorte de AAD los que desarrollaron CHC también tenían mayor edad (61 vs 55), la mayoría fueron varones y cirróticos, con peor valores de elastografía y analítica basal.

El genotipo 1 fue el único en la cohorte TT, dado que solo se podía administrar en ese grupo, de estos, el 54,5% (n=6) fue 1b. El genotipo en AAD mas predominante en el 61,5% fue el 1b, seguido de un 15,4% de genotipo 3 y 1a.

El tipo de tratamiento que habían recibido los pacientes que desarrollaron CHC en TT fueron: Boceprevir n= 10/11 (90,9%) pacientes y Telaprevir n= 1/11 paciente. En la cohorte de AAD fueron: Sofosbuvir/Ledipasvir un 46,1%, (n=6/12), 3D/2D un 33,3% (n= 4/12), Sofosbuvir/Daclatasvir un 16% (n=2/12) y con Sofosbuvir/Simeprevir un 8,3% (n= 1/12).

Cuando se analizó el estadio funcional basal de los pacientes que desarrollaron CHC en ambas cohortes se observó que en la cohorte TT un 83,4% (n=255) eran Child-Pugh A y un 1,3% (n=4) eran Child-Pugh B. En 45 pacientes no se pudo calcular el Child-Pugh debido a que no estaban disponibles todos los datos basales que permiten calcularlo. En la cohorte de AAD; el 94,9% (n=

22) fueron Child-Pugh A fue y el 2,1% (n=5) fueron Child-Pugh B. En 7 pacientes no estaban disponibles los datos basales completos. En ambas cohortes el grado basal de Child-Pugh de los pacientes que desarrollaron CHC fue Child-Pugh A (100%).

#### **Análisis Univariado y multivariado de pacientes con CHC tratados con triple terapia.**

Al realizar el Análisis univariado de pacientes tratados con TT, se observó que el tener mayor edad, ser varón, tener fibrosis avanzada (F3-F4), la presencia de varices, valores más elevados de rigidez hepática de ALT, AST y más bajos de albumina y plaquetas fueron factores basales que estuvieron en relación con el desarrollo de CHC. En el análisis multivariado permanecieron con significancia estadística el sexo, edad, ALT y AST.

#### **Análisis Univariado y multivariado de pacientes con CHC tratados con AAD**

En la cohorte de AAD los factores basales que tuvieron relación con la aparición del CHC fueron: la presencia de varices, valores más elevados de rigidez hepática y GGT y más bajos albumina. En el análisis multivariado persistieron la albumina y GGT.

Con el fin de estimar el efecto de los tratamientos sobre la incidencia del CHC, se realizó un *propensity score* ajustándolo a las variables de riesgo para el desarrollo del CHC en las 2 cohortes; se observó que la probabilidad de incidencia del CHC en ambas cohortes fue similar (7% en TT vs 7.1% DAA) ( $p = 0.9$ ).

Tabla 22. Características basales de pacientes tratados con triple terapia que desarrollan **CHC**

<b>Triple terapia N =304</b>	<b>Pacientes con CHC N= 11</b>	<b>Pacientes sin CHC N= 293</b>	<b>Valor de P</b>
<b>Edad media</b>	61 (DE8)	55 (DE8,9)	<b>0,03</b>
<b>Sexo: Varón Mujer</b>	11 (5,3%) 0	196 (94,7%) 97 (100%)	<b>0,02</b>
<b>Estadio de Fibrosis:</b> <b>F0-1:</b> <b>F2</b> <b>F3</b> <b>F4</b>	0 0 2 (2,1%) 9 (6,6%)	0 0 92 (97,9%) 127 (93,4%)	0,36
<b>Presencia de Varices</b> <b>Ausencia</b>	4 (10,8%) 3 (4,7%)	33 (89,2%) 61 (95,3%)	<b>0,02</b>
<b>Media Kpa</b>	22,2 (DE8,7)	15,5 (DE10,6)	<b>0,04</b>
<b>ALT(U/L)</b>	164 (DE87)	94 (DE71)	<b>0,002</b>
<b>AST(U/L)</b>	147 (DE84)	75 (DE53)	<b>&lt;0,001</b>
<b>GGT (U/L)</b>	158 (DE137)	104 (DE94)	0,07
<b>Bilirrubina (mg/dL)</b>	0,95 (DE0,28)	0,80 (DE0,45)	0,30
<b>Albumina (g/dL)</b>	3,9 (DE0,3)	4,3 (DE0,3)	<b>0,009</b>
<b>Plaquetas (10x<sup>3</sup>/mL)</b>	118 (DE46)	168 (DE59)	<b>0,009</b>
<b>INR</b>	1,16 (DE0,10)	1,5 (DE0,6)	0,86

Tabla 23. Características basales de pacientes tratados con AAD que desarrollan **CHC**

<b>AAD N =234</b>	<b>Pacientes con CHC N= 12</b>	<b>Pacientes sin CHC N= 222</b>	<b>Valor de P</b>
<b>Edad</b>	63 (DE7)	58 (DE9,9)	0,07
<b>Sexo:</b> <b>Hombre</b> <b>Mujer</b>	8 (5,8%) 4 (4,2%)	130 (94,2%) 92 (95,8%)	0,58
<b>Estadio de Fibrosis:</b> <b>F0-1:</b> <b>F2</b> <b>F3</b> <b>F4</b>	0 1 (2,5%) 1 (5,8%) 10 (7%)	35 (100%) 38 (97,5%) 16 (94,2%) 131 (93%)	0,32
<b>Presencia de Varices</b> <b>Ausencia de varices</b>	5 (12,8%) 1 (1,5%)	34 (87,2%) 66 (98,5%)	<b>0,03</b>
<b>Media Kpa</b>	24 (DE14)	16,2 (DE10,8)	<b>0,03</b>
<b>ALT (U/L)</b>	77 (DE36)	90 (DE67)	0,49
<b>AST (U/L)</b>	100 (DE59)	70,4 (DE59)	0,21
<b>GGT (U/L)</b>	226 (DE265)	104 (DE97)	<b>&lt;0,001</b>
<b>Bilirrubina (mg/dL)</b>	1,1 (DE0,4)	0,9 (DE0,7)	0,37
<b>Albumina (g/dL)</b>	3,8 (DE0,4)	4,2 (DE0,4)	<b>&lt;0,001</b>
<b>Plaquetas (10x<sup>3</sup>/mL)</b>	136 (DE92)	169 (DE71)	0,13
<b>INR</b>	1,0 (DE0,11)	1,07(DE0,7)	0,76

### ***Respuesta Viral Sostenida***

En relación con la RVS y la aparición de CHC, en la cohorte TT, un total de 195 pacientes alcanzaron RVS, de estos, 3 desarrollaron CHC (1,5%). En el subgrupo de pacientes que no alcanzo la RVS (N= 108) el 7,4% desarrolló CHC. La tasa de incidencia en el grupo de RVS vs No-RVS fue de 1.5% vs 7,4% ( $p=0,032$ ), siendo estadísticamente significativo.

En la cohorte de AAD, un total de 229 pacientes alcanzaron la RVS, de estos, un total de 11 (4,8%) pacientes desarrollaron CHC. Solo 4 (1,7%) pacientes no alcanzaron la RVS, de estos, solo 1 (25%) desarrolló CHC. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas debido a la n tan pequeña de pacientes ( $p=0,187$ ).

En la cohorte de triple, de los 11 que desarrollan CHC solo 3 alcanza la RVS (27,3%) vs el 65,5% que no desarrollan CHC y alcanzan la RVS ( $p=0,032$ ) Gráfico 25.

En la de AAD, de los 12 pacientes que desarrollan CHC, un total de 11 (91,7%) alcanza la RVS vs el 98,2% de los que no desarrollan CHC y alcanzan la RVS ( $P= 0,647$ ). (Gráfico 26)

*Gráfico 25. Incidencia del CHC y RVS en la cohorte Triple terapia*

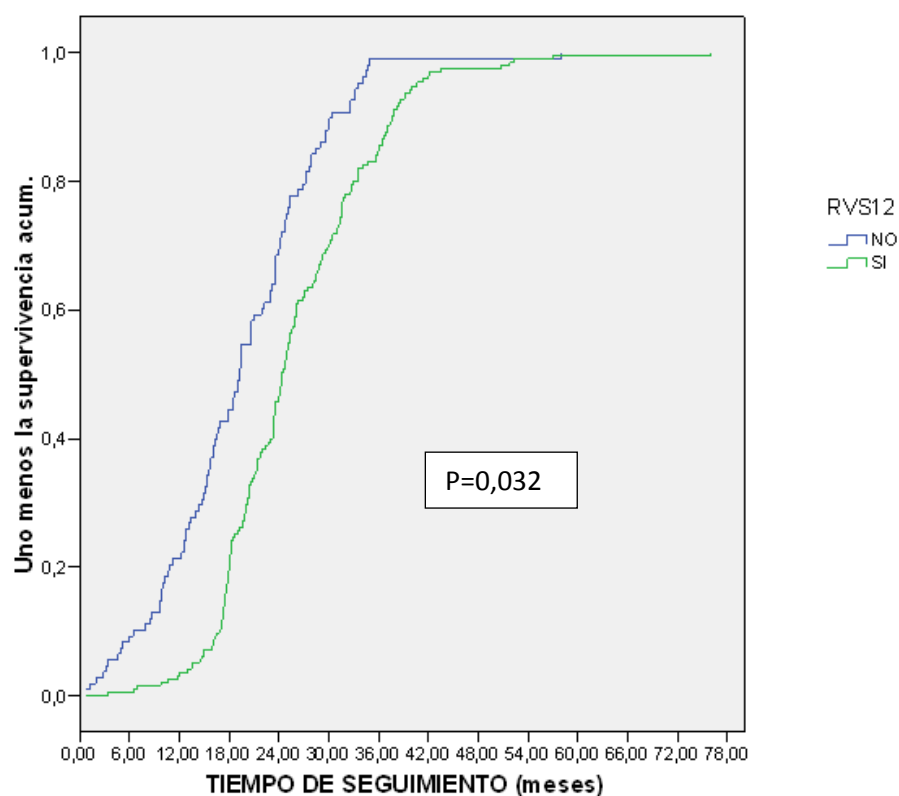
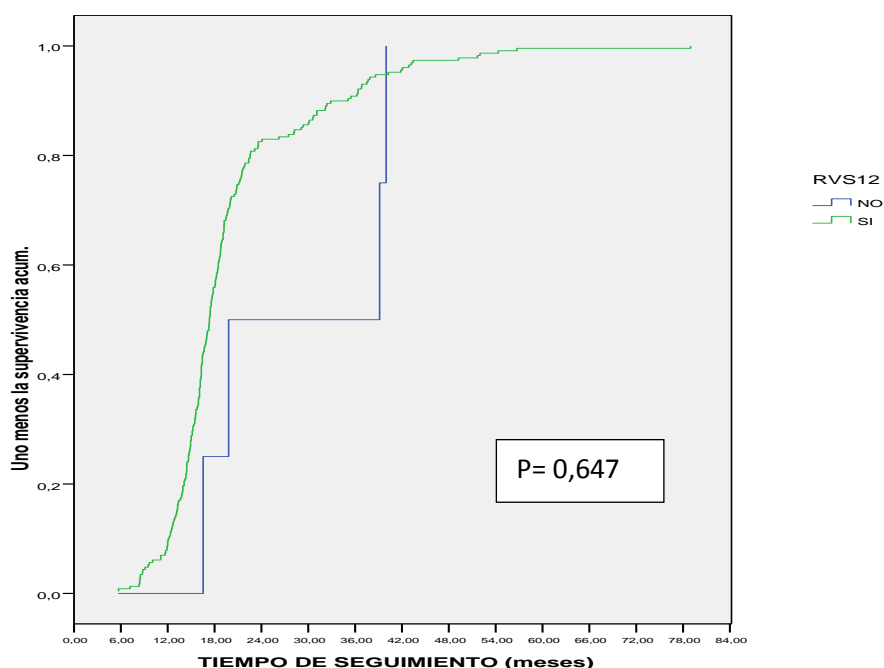


Gráfico 26. Incidencia del CHC y RVS en la cohorte AAD



#### ESTADIO BCLC Y NUMERO DE LESIONES.

Del total de los 24 pacientes con CHC hay datos en 22 (91,7%) del BCLC al momento del diagnostico . Un 25% (n=6) de los pacientes tenían estadio BCLC 0, un 50% (n=12) estadio BCLC A y un 16,7% (n= 4) estadio BCLC B.

El numero de pacientes con lesión unica en el momento del diagnostico fue del 63,6%, hasta 3 < 3cm un total de 6 pacientes (27,3%) y 2 (9,1%) con CHC multicentrico sin invasion portal.

El primer tratamiento para el CHC que recibieron los pacientes (hay datos en 20 pacientes (83,3%)). Ablacion (n=13, 65%), Cirugia (n= 1, 5%), Quimioembolizacion (n=2, 10%), radioembolizacion (n= 3, 15%) y sintomatico (n=1, 5%).

Para valorar la respuesta tras el primer tratamiento, se observaron datos en 19 pacientes (79,2%). De estos, un 63,2% (n=12) estaban en respuesta completa, en respuesta parcial un 21% (n= 4) y con recidiva tratable en un 15,8% (n= 3). Tras el primer tratamiento, un total de 5 (20,8%) pacientes recibieron trasplante hepatico. Un total de 6 pacientes tuvieron una segunda recurrencia. Un total de 4 (16,6%) pacientes fallecieron en una mediana de 11,9 meses (3-37 ) desde el diagnostico de CHC. De los 4 pacientes fallecidos, 3 fueron de causa hepatica en 1 no habia datos.

## **VI. DISCUSIÓN**

En este estudio retrospectivo se incluyeron un total de 594 pacientes tratados con Triple Terapia (TT) y Antivirales de Acción Directa (AAD) en práctica clínica real. De estos, 56 pacientes fueron excluidos (8 en TT y 48 en AAD) del análisis por datos de descompensación hepática previa al tratamiento. Finalmente, el análisis se realizó en 538 pacientes (304 TT y 234 AAD), con una media de seguimiento en la cohorte de TT de 24,6 meses y en la de AAD de 24 meses.

En general, La población de pacientes que se incluye en los ensayos clínicos de registro difiere a los de práctica clínica habitual, ya que en los ensayos clínicos la población suele estar cuidadosamente seleccionada y controlada, siendo por lo general cohortes de pacientes muy homogéneas, no siendo así en la práctica clínica habitual. Es esencial, por tanto, realizar estudios de efectividad clínica que evalúen los efectos de un tratamiento en condiciones de práctica real, tanto a nivel del prescriptor como del propio paciente.

Cuando se comparó las características basales de cada cohorte, se observó que el grupo de TT presentaba pacientes más jóvenes, con IL28B CT, no respondedores a un tratamiento previo con interferón y donde casi la mitad de la población eran pacientes cirróticos (43,4%). Este gran número de cirróticos probablemente se debió a 2 factores: 1) Era entonces la única alternativa disponible en ese momento para los pacientes que tenían ya un fallo a INF-PEG y RBV y 2) a que precisamente debido al pequeño porcentaje de RVS que se obtenía con el interferón-pegilado en el año 2011, muchos pacientes prefirieron esperar a los inhibidores de proteasa de primera generación ya que auguraban tasas de RVS de hasta el 70%.

De los pacientes tratados con TT, un 60,5% recibió TVR y un 39,5% BOC. Esta diferencia probablemente se debió a la propia característica del estudio que era no aleatorizado asignando Boceprevir o Telaprevir a criterio del investigador. Las características basales de los pacientes tratados con TVR y BOC se correspondió tal y como lo asignaba la ficha técnica (F3/F4, naïves y recidivantes) y (F3/F4, naïves y respondedores nulos) respectivamente.

Sin embargo en la cohorte de AAD, los pacientes tenían mayor edad, y hasta un 85,5% no tenía realizada la IL28B, ya que a diferencia de los tratamientos con interferón no era un factor predictor de respuesta al tratamiento. El porcentaje de pacientes cirróticos alcanzó el 60%, más elevado que en TT. Este mayor porcentaje de cirróticos se explica porque nuevamente se incluyeron pacientes que no habían querido recibir tratamientos con interferón, con contraindicaciones y que no habían respondido al mismo. Esto explica por qué muchos pacientes con enfermedad hepática avanzada que estaban sin seguimiento en la consulta, reaparecieron con la llegada de estos fármacos.



Globalmente un 64,5% alcanzó una RVS con TT. La RVS fue del 74,4% con TVR y del 49,2% con BOC. Esta diferencia puede explicarse no tanto por la diferencia de eficacia entre ambos fármacos sino, porque la mayoría de los pacientes que recibieron Boceprevir eran más difíciles de tratar (respondedores nulos y enfermedad hepática más avanzada). Esta situación refleja la creencia existente, no basada en una evidencia científica sólida, que Boceprevir era mejor tolerado en pacientes cirróticos que Telaprevir.

Estos resultados globales se corresponden con los ya publicados en los estudios de registro y práctica clínica real de pacientes con enfermedad hepática avanzada (F3-F4) tratados con TT (ADVANCED, ILLUMINATED, REALIZE, RESPOND-1, RESPOND-2, SPRINT 1 y 2, cohorte CUPIC, Programa de Acceso Precoz a Telaprevir (EAP), Uso compasivo de Boceprevir en España).<sup>143-146</sup>  
72,73,146

La cohorte CUPIC, fue la cohorte de práctica clínica real más grande de pacientes cirróticos experimentados tratados con TT; en esta, se observaron tasas de RVS en el grupo de TVR (Recidivantes, respondedor parcial y respondedor nulo) de un 53%, 32% y 29% respectivamente y en el grupo de Boceprevir de un 51%, 40% y 11% respectivamente.

En la cohorte de AAD la tasa global de RVS fue del 97,8%. Excelentes resultados que también se observaron independientemente del tipo de tratamiento. Solo se observaron tasas de RVS <90% en el grupo de pacientes que recibió Sofosbuvir/Ribavirina y Sofosbuvir/Daclatasvir, probablemente al pequeño número de pacientes que habían recibido estas combinaciones. Además la combinación de Sofosbuvir y Ribavirina es una combinación que ahora consideramos sub-optima en poblaciones con genotipo 1 y 4, no recomendándose actualmente en las guías de práctica clínica.<sup>147</sup>

Estos resultados coinciden con los ensayos clínicos de registro y práctica clínica (SAPPHIRE I y II, TURQUOISE II, ION-1, 2 y 3, QUEST-1 Y 2, COSMOS, TRIO).<sup>148,14974,80,83,84,97,98,150</sup> Aunque, cuando lo comparamos con la cohorte de práctica clínica real TARGET nuestros resultados mostraron mejores tasas de RVS con la combinación de SOF/SIME (91,6%) en comparación con un 83% ITT y 87% PP y también cuando se comparó con los resultados de SOF/RBV (71% cirróticos) en la cohorte TRIO. El impacto de la adición de RBV en esta cohorte no fue analizada, ya que escasos prescindieron de ella. No es habitual en otras enfermedades que los resultados en cohortes de pacientes en práctica real sean similares a los ensayos clínicos, ya que incluyen pacientes más añosos y con comorbilidades.

En la cohorte de pacientes tratados con TT, los factores que se asociaron a la RVS fueron: genotipo, IL28B, el tipo de respuesta previa, la media de KPa, el tratamiento con Telaprevir, colesterol, LDL, GGT, bilirrubina, FA, albumina, plaquetas. En el multivariado niveles más bajos de GGT y más elevado de albumina fueron factores protectores a la RVS. En AAD se asoció en el multivariado a la FA. Estos factores han sido publicados en numerosos ensayos clínicos y cohortes de vida real.

En resumen, se observaron mayores tasas de RVS en la cohorte de AAD que en TT (97,8% vs 64,5 %) con mejor tolerancia y menos efectos secundarios. Esto justifica lo que ha ocurrido en la práctica clínica a nivel mundial, habiéndose producido una desaparición casi completa de los tratamientos con triple terapia. Estos resultados tienen aún más valor si tenemos en cuenta que los pacientes incluidos en la cohorte de AAD eran pacientes con enfermedad hepática más avanzada.

El principal objetivo de este estudio fue evaluar qué impacto tenía alcanzar la RVS en el desarrollo de complicaciones, en la mortalidad global, en la mortalidad de causa hepática y no hepática, en la incidencia de carcinoma hepatocelular y la necesidad de trasplante hepático en comparación con aquellos que no tuvieron RVS.

Nuestros resultados muestran una descompensación en la cohorte global del 7,4%, siendo mayor en cirróticos con TT que en AAD (17,6% vs 7,8%). Las descompensaciones en TT se observaron más con BOC que TVR (25,4% vs 9,2%) y en AAD con SOF/DCV y SOF/LDV (11,8% vs 8,7%), aunque no se pueden comparar ya que incluyen pacientes muy heterogéneos.

La mayor parte de las descompensaciones ocurrieron durante el tratamiento antiviral (54,2% TT y 54,5% AAD). La aparición de descompensación durante el tratamiento podría tener relación con la toxicidad directa de la terapia en pacientes avanzados.<sup>151</sup> En este sentido, nuestro grupo ha publicado recientemente que aquellos cirróticos con un MELD basal de más de 18 puntos, presentan una mayor frecuencia de efectos adversos con el tratamiento antiviral oral y una mayor mortalidad. La conclusión de este trabajo sugiere que puede existir un punto (en este caso un MELD de 18) en el que el tratamiento antiviral puede tener un efecto deletéreo sobre el paciente. Las conclusiones de este y otros trabajos con similares resultados han determinado que en las guías se recomienda individualizar la decisión de tratamiento en estos pacientes tan descompensados, especialmente si están en lista de trasplante ya que pueden recibirlo con mayores garantías en el post-trasplante inmediato.

En el grupo de TT la descompensación más frecuente fue la ascitis (11%) seguido del CHC (6,6%). Por el contrario en la cohorte de AAD la más frecuente fue el CHC (7%). Uno de los hallazgos más relevantes de nuestro trabajo fue la reducción de la descompensación hepática en aquellos pacientes que consiguen la RVS. La probabilidad acumulada de descompensación hepática al año post tratamiento en TT fue 4,3% en pacientes con RVS y de un 16,3% en pacientes que no alcanzaron la RVS ( $p=0,02$ ). En la cohorte de pacientes con AAD fue igual, significativamente menor en pacientes que alcanzaron la RVS (1,6% vs 33,7% No-RVS) ( $p<0,05$ ). Recientemente se ha comunicado un trabajo multicéntrico español en el que hemos participado, en el que se han evaluado los cambios en la presión portal antes y después del tratamiento antiviral oral en un grupo de más de 200 pacientes. En este estudio se observó una reducción significativa de más de 2 mmHg en la media del gradiente de presión venosa hepática (GPVH) con el tratamiento antiviral. Sin embargo, casi el 80% de los pacientes continuaban teniendo después del tratamiento un GPVH de más de 10 mmHg, lo cual significa que continúan en riesgo de desarrollar complicaciones asociadas a la hipertensión portal.<sup>152</sup> Desde el punto de vista práctico es necesario insistir en estos pacientes para que lleven un estilo de vida saludable (no alcohol y evitar la obesidad) y precisan de un seguimiento estrecho para detectar precozmente las complicaciones. Son necesarios además estudios a más largo plazo dirigidos a evaluar si continúa reduciéndose la presión portal después del tratamiento y que impacto clínico tiene en nuestros pacientes. En nuestra serie, a pesar de haber obtenido una RVS, se observaron 2 episodios de ascitis, 3 episodios de encefalopatía y 1 episodio de hemorragia por varices, indicando que estos pacientes mantenían hipertensión portal clínicamente significativa a pesar de la curación virológica.

La RVS redujo significativamente la necesidad de trasplante hepático. En el grupo de TT solo un 1,4% precisó trasplante vs 7,6% en el grupo No-RVS, siendo esta diferencia estadísticamente significativa ( $p=0,08$ ). En el grupo de AAD solo 1,1% precisó trasplante vs un 6,8% en el grupo sin RVS.

Se observó que los factores basales relacionados con la descompensación fueron principalmente parámetros de deterioro de la función hepática (albúmina, plaquetas, bilirrubina). Esta combinación de factores puede ayudarnos a seleccionar basalmente cuales pacientes podrían tener mayor riesgo de desarrollar complicaciones durante o después al tratamiento.

En definitiva, nuestro trabajo sugiere que el tratamiento con IFN es capaz de producir más descompensaciones que los AAD por el tipo de tratamiento y su duración. No hay que olvidar

que la duración de cualquier régimen basado en interferón es de 12 meses. Sin embargo demuestra que cuando se obtiene la RVS se produce un cambio en la historia natural de la enfermedad, reduciendo así la tasa de descompensación hepática.

La mortalidad global en la cohorte de TT fue del 2,9% con un seguimiento medio de 24,6 meses; en el 50% de los casos de causa hepática (complicaciones de la cirrosis) y el otro 50% de causa no hepática (asociada a eventos cardiovasculares, IAM) ( $p=0,04$ ). En la cohorte de AAD con un seguimiento medio de 24 meses, la mortalidad global fue del 2,1%, con un 75% de causa hepática (complicaciones de la cirrosis provocadas por progresión tumoral) y el 25% de causa no hepática (complicaciones cardiovasculares, Edema Agudo de Pulmón).

En el grupo de TT fallecieron 4 pacientes, todos ellos en el grupo sin RVS (0/196 0% vs 4/108 3,7%). En el grupo de AAD fallecieron 3 pacientes, dos con RVS y uno sin ella.

La cohorte Cirvir incluye un análisis prospectivo de más de 1300 pacientes cirróticos, Child-Pugh A seguidos durante una media de 31 meses después de obtener la RVS. Incluye principalmente pacientes tratados con interferón y una sub-cohorte de 179 pacientes tratados con AAD, cuyo seguimiento es obviamente menor. Las conclusiones de este trabajo es que se la RVS se asocia a un descenso de la mortalidad, de la descompensación y de la tasa de CHC. Los datos de la subcohorte tratada con AAD son más difíciles de individualizar pero los autores comentan que los beneficios en términos de historia natural de la enfermedad fueron similares para los pacientes tratados con interferón o con AAD. Es destacable que los pacientes que desarrollaron CHC con RVS tenían una incidencia mayor de síndrome metabólico. En nuestra serie la presencia de CHC solo se relacionó en ambos grupos con una mayor edad, con una mayor GGT y con la presencia de hipertensión portal y una peor función hepática.<sup>153</sup>

Van Der Meer et al <sup>40</sup> publican un estudio, que es considerado como una referencia en este campo, en el siguen durante 10 años a una cohorte de 530 pacientes tratados con interferón. En este trabajo se demuestra como la RVS disminuye el desarrollo de complicaciones y la mortalidad global de causa hepática y no hepática. Se observó una disminución de la mortalidad global de 8,9 % en RVS vs 26% en pacientes no RVS. De igual manera se produjo un descenso de la necesidad de trasplante hepático en RVS (1,9% RVS vs 27,4% No RVS). En esta cohorte la incidencia a 10 años de CHC fue del 5,1% en pacientes con RVS vs 21,8% en pacientes sin RVS. Nuestro estudio incluye pacientes tratados con triple terapia y con AAD, que son pacientes más avanzados globalmente que los incluidos en el estudio de Van de Meer et al. Esto explicaría la mayor morbilidad y mortalidad de nuestra cohorte, teniendo en cuenta que en su caso la mayor parte de las complicaciones ocurren a partir de los 24 meses, siendo

muy pequeñas en el periodo inicial especialmente en los pacientes con RVS. Son necesarios, por tanto, estudios a largo plazo (más de 5 años) en cohortes de pacientes tratados con AAD para evaluar el impacto a largo plazo.

En resumen, nuestros resultados han demostrado una mejoría en términos de supervivencia, descompensación y muerte de cualquier causa en aquellos pacientes que logran alcanzar la RVS.

El segundo objetivo de nuestro estudio fue analizar la mejoría de la rigidez hepática tras 1 año post-tratamiento. Este análisis se realizó en todos los estadios de fibrosis. En nuestra cohorte se observó una mejoría global de la rigidez hepática del 51,3% en el grupo de TT y del 82,7% en el grupo de tratamiento con AAD. En aquellos pacientes que alcanzaron la RVS, la mejoría de la rigidez hepática fue significativamente superior a los que no la alcanzaron, siendo en el grupo de TT del 87% vs 13%. En la cohorte de AAD fue de 99,3% en pacientes con RVS vs 0,65% en los pacientes sin RVS. ( $p < 0,001$ ). Cuando analizamos la mejoría de la elastografía hepática al año en pacientes F4 basales, observamos una reducción del 35,8% de los F4 en la cohorte de TT y una reducción del 59,8% en el grupo de AAD.

Cuando analizamos globalmente la media de disminución de los KPa, observamos una disminución con respecto al basal de 2.1 Kpa en el grupo de TT y de 6 Kpa en el grupo de AAD ( $p = < 0,001$ ), siendo la magnitud de la disminución mayor en el grupo de AAD.

Los pacientes que alcanzaron la RVS obtuvieron un descenso significativamente mayor en la rigidez hepática que los pacientes sin RVS. Se observó una disminución en pacientes con RVS y sin RVS en TT de (20,0 Kpa RVS vs 9,9 Kpa No-RVS ( $p = < 0,001$ )). En el grupo de AAD se observó un descenso de 7,15 kPasc vs 1 kPasc en los pacientes que no respondieron.

De manera sorprendente un pequeño porcentaje de pacientes empeora la rigidez hepática en el grupo de AAD de un 15,6%, todos con RVS. Esto podría deberse a que pueden existir otros cofactores que empeoren la fibrosis a pesar de la curación de la infección por VHC.

En resumen, la RVS reduce los valores de rigidez hepática independientemente del tipo de tratamiento aunque globalmente existe una mayor reducción en los valores de elastografía hepática en la cohorte de pacientes con AAD en comparación con los de TT. Nuevamente en esta cohorte debido a la potencia antiviral de estos fármacos es prácticamente imposible establecer una comparación en aquellos pacientes con RVS y sin RVS que tuvieron elastografía basal y post tratamiento, ya que solo el 0,6% de esta población no alcanzó la RVS.

Singh y cols publicaron recientemente una revisión/meta-análisis de 24 estudios que recoge la experiencia en 2377 pacientes a los que se le realiza elastografía post tratamiento. El end-point primario fue la evaluación de la rigidez hepática a los 6-12 meses post tratamiento. En este estudio se observó en pacientes con RVS una media de disminución de 4,6 Kpa en AAD y 2,6 Kpa en tratamientos con interferón y una disminución relativa de la mediana de rigidez hepática del 28,2%. En nuestra cohorte la valoración de la elastografía hepática se realizó al menos a 1 año post tratamiento. Nuestros resultados muestran una disminución de 7,1 Kpa en los tratados con AAD y de 2,1 Kpa en TT superiores a la de Singh et al, probablemente porque en nuestra cohorte todos los pacientes fueron valorados después de un año de seguimiento.

Esta mejoría en la rigidez hepática no siempre traduce una disminución de la fibrosis. De hecho el rápido descenso que se produce nada más iniciar el tratamiento puede deberse a una mejoría rápida en la inflamación al producirse la negativización del virus. Esto es más llamativo en la cohorte tratada con AAD en la que debido a la mayor potencia antiviral se produce un descenso muy rápido y relevante de la rigidez hepática que es mayor que en el grupo tratado con TT. En nuestro estudio el descenso fue mayor en los pacientes que basalmente tenían valores más elevados de rigidez hepática. En nuestra cohorte la magnitud de la disminución también fue mayor en pacientes F4 basales (el 50% en TT y el 33.6% en AAD). A pesar de que en TT es más elevada, la magnitud de la disminución fue comparable. No se encontró diferencias significativas en pacientes con niveles más elevados de ALT, ni diabéticos o hipertensos catalogados como probables co-factores que pudieran limitar el impacto de la disminución de la rigidez hepática.<sup>154</sup>

Una limitación que pueden tener estos datos es que no se analizó la presencia o ausencia de esteatosis así como el consumo de alcohol de manera muy estricta pudiendo alterar estos cofactores la mayor o menor disminución de la fibrosis hepática.

Tras la reciente alerta publicada por la EMA y AEMPS a raíz de la publicación de varios artículos en los que se describía un aumento en la recurrencia del Carcinoma hepatocelular en pacientes tratados con AAD, quisimos evaluar cuál fue el impacto de la RVS en la incidencia de cáncer hepático en ambas cohortes.<sup>155</sup>

La base racional que se ha empleado para justificar el aumento de la incidencia o recurrencia de CHC tras el tratamiento antiviral son las alteraciones inmunológicas que se producen tras el aclaramiento viral rápido, que después de obtenerse tras el tratamiento con AAD, se produciría una pérdida del control inmune tumoral que explicaría la mayor incidencia y recurrencia del CHC tras el tratamiento con AAD.

En nuestro estudio se observó una incidencia global de CHC del 4,4%. En el grupo tratado con TT fue del 3,6% y del 5,5% en el grupo tratado con AAD.

En pacientes cirróticos, la incidencia de CHC en nuestro estudio fue del 6,6% en el grupo tratado con TT vs 7.0% en el grupo tratado con AAD, con un seguimiento medio de 24, 6 meses en el grupo TT y 24 meses en el grupo de AAD.

Conti et al <sup>156</sup> publican una cohorte de pacientes tratados con AAD analizados retrospectivamente. La incidencia de CHC en un grupo de 285 pacientes con un seguimiento medio de 6 meses fue del 3.1 % aduciendo los autores que se trata de una incidencia más elevada de lo esperada. Sin embargo existen otras numerosas series que no encuentran un aumento de la incidencia. <sup>153 157 158</sup>

Analizando nuestra serie se observó la aparición de 6 casos de CHC en pacientes cirróticos en los primeros 12 meses de seguimiento siendo la incidencia a 1 año del 4,2 % y la incidencia global en toda esta cohorte de pacientes cirróticos del 7%. Es difícil en este punto decir si se trata de una incidencia más o menos elevada por no existir un comparador claro. Las cohortes pueden incluir más o menos pacientes con factores asociados al desarrollo de CHC como hepatopatía avanzada, edad, GGT etc.

Cuando analizamos la relación temporal y la aparición del cáncer, observamos que en la cohorte de AAD el cáncer ocurrió más tempranamente (7 meses (31 días-14 meses) en comparación con el grupo de TT (14 meses (5 meses-36 meses). Este es un hallazgo interesante en nuestro estudio, ya que podría significar que aunque globalmente no exista un aumento en la incidencia, podría existir un aumento temporal de la incidencia de CHC justo después del tratamiento antiviral. Esto también explicaría por qué cuando se mira a largo plazo no se observan diferencias relevantes entre la incidencia en los pacientes tratados con interferón y los tratados con AAD.

De hecho uno de los resultados más originales de nuestro trabajo fue el obtenido mediante la utilización de una herramienta estadística para comparar ambos grupos de tratamiento. En nuestro trabajo estimamos el efecto de los tratamientos sobre la incidencia del CHC con un *propensity score* ajustándolo a las variables de riesgo para el desarrollo del CHC en las 2 cohortes; Se observó que la probabilidad de incidencia del CHC en ambas cohortes fue similar (7% en TT vs 7.1% DAA) ( $p = 0.9$ ).

Con respecto a los factores de riesgo para el desarrollo de CHC , se observaron mayores tasas de CHC en el grupo tratado con TT en pacientes que basalmente presentaban mayor edad,

eran varones, con fibrosis F4 en la elastografía, con datos de hipertensión portal (Varices esofágicas), con valores más elevados de rigidez hepática (22,2 Kpa vs 15,5 Kpa), con ALT y AST más elevadas y albumina y plaquetas más bajas. En el grupo de AAD las características basales que se asociaron a su desarrollo fueron: la presencia de varices esofágicas, valores más elevados de rigidez hepática (24 Kpa vs 16,2 Kpa), de GGT y más bajos de albumina.

Con respecto a la forma de presentación de los CHC encontramos que la mayor parte de los casos debutaron con una lesión única y solo el 10% como lesiones avanzadas sin posibilidad terapéutica. De hecho el 70% de los tumores recibieron tratamientos curativos (cirugía o ablación), el 25% recibió tratamiento paliativo (quimioembolización o radioembolización) y solo el 5% recibió tratamiento sintomático. No observamos por tanto una mayor agresividad en su presentación que también ha sido observado por otros autores.<sup>155 156 147</sup>

Por lo tanto, podemos resumir que los factores de riesgo en pacientes cirróticos para la aparición del CHC son la edad avanzada, el sexo varón, los datos de hipertensión portal, la presencia de una mayor rigidez hepática y los valores bajos de albumina.

Las limitaciones de nuestro estudio incluyen el ser un estudio de practica real , donde los protocolos de seguimiento de los pacientes no son igual de estrictos que en un ensayo clinico. Ademas aunque se han recogido los datos prospectivamente, el analisis ha sido realizado retrospectivamente lo cual puede introducir algun sesgo.

En cualquier caso , no hay que olvidar que los pacientes incluidos en nuestro estudio corresponden a tres hospitales universitarios de primer nivel con un estandar alto de cuidados a estos pacientes .

Otra de las limitaciones ha sido el escaso numero de pacientes tratados con AAD que no obtuvieron RVS . Este hecho limita las conclusiones del beneficio de la SVR en estos pacientes siendo necesario un estudio con un numero mucho mayor de pacientes no respondedores para poder aumentar la solidez de las conclusiones . De todas formas, las conclusiones que hemos obtenido en nuestro trabajo son razonables dando coherencia al total del trabajo .

La evaluacion de la rigidez hepatica tiende a interpretarse como una disminucion de la fibrosis, y esto, como ha sido discutido anteriormente, no es del todo cierto . Este hecho podria ser una limitación en la interpretación de los resultados de nuestro estudio . En cualquier caso va a ser dificil que alguien pueda publicar datos de biopsia hepática antes y despues del tratamiento antiviral , que por otro lado podria tener tambien el sesgo de la variabilidad interobservador . Con lo que tenemos , deberemos pensar que , al menos una parte de ese descenso en la



rigidez, corresponde a mejoría en la fibrosis especialmente en los datos después de 1 año de finalizar el tratamiento

Por último, las limitaciones en la interpretación de la incidencia de CHC vienen intrínsecamente de la ausencia de un comparador claro. En cualquier caso, en nuestra serie se puede concluir que a largo plazo existe un beneficio de los pacientes con RVS en términos de incidencia de CHC.

## **VII. CONCLUSIONES**

1. La respuesta viral sostenida independientemente del tipo de tratamiento, se asocia de una manera muy sólida con una disminución en el riesgo de desarrollo de complicaciones, muerte y necesidad de trasplante hepático.
2. El riesgo de descompensación en pacientes con RVS no llega a abolirse por completo, por lo que es indispensable realizar seguimientos periódicos en pacientes con enfermedad hepática avanzada.
3. En el grupo de pacientes que recibieron tratamiento con triple terapia la principal forma de complicación hepática fue la ascitis, mientras que en los que recibieron tratamiento con antivirales de acción directa la principal forma de complicación a largo plazo fue el desarrollo de hepatocarcinoma.
4. La mejoría en la rigidez hepática post tratamiento antiviral se relaciona de forma estrecha con la respuesta viral sostenida y con la potencia antiviral del fármaco.
5. La RVS disminuye la incidencia del Carcinoma Hepatocelular en tratamiento con interferón y con antivirales orales.
- 6- Los factores asociados a la aparición de CHC fue la edad avanzada, sexo varón, presencia de hipertensión portal, GGT elevada, rigidez hepática aumentada y valores más bajos de albumina
- 6- La aparición de CHC en la cohorte de pacientes tratados con AAD fue más precoz que en la cohorte de pacientes tratados con Triple terapia con interferón
- 7- La mayor parte de los casos de CHC detectados en el seguimiento fueron subsidiarios de tratamientos curativos

## **VIII. BIBLIOGRAFIA**

1. Global hepatitis report, 2017. Geneva: World Health Organization. Geneva: WHO;2017. License: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.
2. PetruzzIELlo A, Marigliano S, Loquercio G, Cacciapuoti C. Hepatitis C virus (HCV) genotypes distribution: an epidemiological up-date in Europe. *Infectious agents and cancer*. 2016;11:53.
3. Negro F. Epidemiology of hepatitis C in Europe. *Digestive and liver disease : official journal of the Italian Society of Gastroenterology and the Italian Association for the Study of the Liver*. Dec 15 2014;46 Suppl 5:S158-164.
4. Bruggmann P, Berg T, Ovrehus AL, et al. Historical epidemiology of hepatitis C virus (HCV) in selected countries. *Journal of viral hepatitis*. May 2014;21 Suppl 1:5-33.
5. El-Zanaty F, Way A. Egypt Demographic and Health Survey 2008. In: Egypt: Ministry of Health E-ZaA, and Macro International, ed. Cairo2009.
6. Pepin J, Abou Chakra CN, Pepin E, Nault V, Valiquette L. Evolution of the global burden of viral infections from unsafe medical injections, 2000-2010. *PloS one*. 2014;9(6):e99677.
7. Saraswat V, Norris S, de Knecht RJ, et al. Historical epidemiology of hepatitis C virus (HCV) in select countries - volume 2. *Journal of viral hepatitis*. Jan 2015;22 Suppl 1:6-25.
8. Liakina V, Hamid S, Tanaka J, et al. Historical epidemiology of hepatitis C virus (HCV) in select countries - volume 3. *Journal of viral hepatitis*. Dec 2015;22 Suppl 4:4-20.
9. Armstrong GL, Alter MJ, McQuillan GM, Margolis HS. The past incidence of hepatitis C virus infection: implications for the future burden of chronic liver disease in the United States. *Hepatology*. Mar 2000;31(3):777-782.
10. Cuadrado A, Perello C, Llerena S, et al. 42º Congreso Anual de la Asociación Española para el Estudio del Hígado. Sesión Oral 1. Estudio de la prevalencia de hepatitis C en la población española. Estudio PREVHEP/Cohorte ETHON. *Gastroenterología y hepatología*. 2017;40((Espec Congr 1)):1-5.
11. AEEH. Guías AEEH/SEIMC de manejo de la Hepatitis C. Madrid: Asociación Española para el Estudio del Hígado;2017.
12. Bruguera M, Forns X. [Hepatitis C in Spain]. *Medicina clinica*. Jun 17 2006;127(3):113-117.
13. Williams I. Epidemiology of hepatitis C in the United States. *The American journal of medicine*. Dec 27 1999;107(6B):2S-9S.
14. Pomper GJ, Wu Y, Snyder EL. Risks of transfusion-transmitted infections: 2003. *Current opinion in hematology*. Nov 2003;10(6):412-418.
15. Alter MJ. Epidemiology of hepatitis C. *Hepatology*. Sep 1997;26(3 Suppl 1):62S-65S.
16. Recommendations for prevention and control of hepatitis C virus (HCV) infection and HCV-related chronic disease. Centers for Disease Control and Prevention. *MMWR. Recommendations and reports : Morbidity and mortality weekly report*. Recommendations and reports. Oct 16 1998;47(RR-19):1-39.
17. Martinez-Bauer E, Forns X, Armelles M, et al. Hospital admission is a relevant source of hepatitis C virus acquisition in Spain. *Journal of hepatology*. Jan 2008;48(1):20-27.

18. Forns X, Martinez-Bauer E, Feliu A, et al. Nosocomial transmission of HCV in the liver unit of a tertiary care center. *Hepatology*. Jan 2005;41(1):115-122.
19. Blumberg BS, Gerstley BJ, Hungerford DA, London WT, Sutnick AI. A serum antigen (Australia antigen) in Down's syndrome, leukemia, and hepatitis. *Annals of internal medicine*. May 1967;66(5):924-931.
20. Houghton M. The long and winding road leading to the identification of the hepatitis C virus. *Journal of hepatology*. Nov 2009;51(5):939-948.
21. Garcia-Retortillo M, Forns X. [Genomic variability and natural history of hepatitis C virus infection]. *Gastroenterologia y hepatologia*. Oct 2002;25(8):514-520.
22. Steinmann E, Penin F, Kallis S, Patel AH, Bartenschlager R, Pietschmann T. Hepatitis C virus p7 protein is crucial for assembly and release of infectious virions. *PLoS pathogens*. Jul 2007;3(7):e103.
23. Lanford RE, Hildebrandt-Eriksen ES, Petri A, et al. Therapeutic silencing of microRNA-122 in primates with chronic hepatitis C virus infection. *Science*. Jan 08 2010;327(5962):198-201.
24. S C, JM P. Chapter 1. HCV Genome and Life Cycle. In: SL T, ed. *Hepatitis C Viruses: Genomes and Molecular Biology*.: Norfolk (UK): Horizon Bioscience; 2006.
25. Sanz-Cameno P, Borque MJ, Garcia-Buey L, Moreno-Otero R. [Interaction of the hepatitis C virus with the cellular membrane]. *Gastroenterologia y hepatologia*. Oct 2002;25(8):521-525.
26. Smith DB, Bukh J, Kuiken C, et al. Expanded classification of hepatitis C virus into 7 genotypes and 67 subtypes: updated criteria and genotype assignment web resource. *Hepatology*. Jan 2014;59(1):318-327.
27. Petruzzello A, Marigliano S, Loquercio G, Cozzolino A, Cacciapuoti C. Global epidemiology of hepatitis C virus infection: An up-date of the distribution and circulation of hepatitis C virus genotypes. *World journal of gastroenterology*. Sep 14 2016;22(34):7824-7840.
28. Grebely J, Page K, Sacks-Davis R, et al. The effects of female sex, viral genotype, and IL28B genotype on spontaneous clearance of acute hepatitis C virus infection. *Hepatology*. Jan 2014;59(1):109-120.
29. Micallef JM, Kaldor JM, Dore GJ. Spontaneous viral clearance following acute hepatitis C infection: a systematic review of longitudinal studies. *Journal of viral hepatitis*. Jan 2006;13(1):34-41.
30. Ghany MG, Kleiner DE, Alter H, et al. Progression of fibrosis in chronic hepatitis C. *Gastroenterology*. Jan 2003;124(1):97-104.
31. Fattovich G, Giustina G, Degos F, et al. Morbidity and mortality in compensated cirrhosis type C: a retrospective follow-up study of 384 patients. *Gastroenterology*. Feb 1997;112(2):463-472.
32. Planas R, Balleste B, Alvarez MA, et al. Natural history of decompensated hepatitis C virus-related cirrhosis. A study of 200 patients. *Journal of hepatology*. May 2004;40(5):823-830.
33. Hu KQ, Tong MJ. The long-term outcomes of patients with compensated hepatitis C virus-related cirrhosis and history of parenteral exposure in the United States. *Hepatology*. Apr 1999;29(4):1311-1316.

34. Pinzani M, Rosselli M, Zuckermann M. Liver cirrhosis. Best practice & research. Clinical gastroenterology. Apr 2011;25(2):281-290.
35. Coulon S, Heindryckx F, Geerts A, Van Steenkiste C, Colle I, Van Vlierberghe H. Angiogenesis in chronic liver disease and its complications. Liver international : official journal of the International Association for the Study of the Liver. Feb 2011;31(2):146-162.
36. Fernandez Rodriguez CM, Gutierrez Garcia ML. [Impact of antiviral therapy on the natural history of hepatitis C virus]. Gastroenterologia y hepatologia. Dec 2014;37(10):583-592.
37. Morisco F, Granata R, Stroffolini T, et al. Sustained virological response: a milestone in the treatment of chronic hepatitis C. World journal of gastroenterology. May 14 2013;19(18):2793-2798.
38. Massard J, Ratzu V, Thabut D, et al. Natural history and predictors of disease severity in chronic hepatitis C. Journal of hepatology. 2006;44(1 Suppl):S19-24.
39. Seeff LB. Natural history of chronic hepatitis C. Hepatology. Nov 2002;36(5 Suppl 1):S35-46.
40. van der Meer AJ, Veldt BJ, Feld JJ, et al. Association between sustained virological response and all-cause mortality among patients with chronic hepatitis C and advanced hepatic fibrosis. Jama. Dec 26 2012;308(24):2584-2593.
41. Hutchinson SJ, Bird SM, Goldberg DJ. Influence of alcohol on the progression of hepatitis C virus infection: a meta-analysis. Clinical gastroenterology and hepatology : the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association. Nov 2005;3(11):1150-1159.
42. Hezode C, Lonjon I, Roudot-Thoraval F, et al. Impact of smoking on histological liver lesions in chronic hepatitis C. Gut. Jan 2003;52(1):126-129.
43. Hezode C, Roudot-Thoraval F, Nguyen S, et al. Daily cannabis smoking as a risk factor for progression of fibrosis in chronic hepatitis C. Hepatology. Jul 2005;42(1):63-71.
44. Goossens N, Negro F. The impact of obesity and metabolic syndrome on chronic hepatitis C. Clinics in liver disease. Feb 2014;18(1):147-156.
45. Costentin CE, Roudot-Thoraval F, Zafrani ES, et al. Association of caffeine intake and histological features of chronic hepatitis C. Journal of hepatology. Jun 2011;54(6):1123-1129.
46. Poynard T, Ratzu V, Charlotte F, Goodman Z, McHutchison J, Albrecht J. Rates and risk factors of liver fibrosis progression in patients with chronic hepatitis c. Journal of hepatology. May 2001;34(5):730-739.
47. Davis GL, Alter MJ, El-Serag H, Poynard T, Jennings LW. Aging of hepatitis C virus (HCV)-infected persons in the United States: a multiple cohort model of HCV prevalence and disease progression. Gastroenterology. Feb 2010;138(2):513-521, 521 e511-516.
48. Bissell DM. Sex and hepatic fibrosis. Hepatology. Mar 1999;29(3):988-989.
49. Nguyen GC, Segev DL, Thuluvath PJ. Racial disparities in the management of hospitalized patients with cirrhosis and complications of portal hypertension: a national study. Hepatology. May 2007;45(5):1282-1289.

50. Gaeta GB, Stornaiuolo G, Precone DF, et al. Epidemiological and clinical burden of chronic hepatitis B virus/hepatitis C virus infection. A multicenter Italian study. *Journal of hepatology*. Dec 2003;39(6):1036-1041.
51. Soriano V, Garcia-Samaniego J, Rodriguez-Rosado R, Gonzalez J, Pedreira J. Hepatitis C and HIV infection: biological, clinical, and therapeutic implications. *Journal of hepatology*. 1999;31 Suppl 1:119-123.
52. Adinolfi LE, Gambardella M, Andreana A, Tripodi MF, Utili R, Ruggiero G. Steatosis accelerates the progression of liver damage of chronic hepatitis C patients and correlates with specific HCV genotype and visceral obesity. *Hepatology*. Jun 2001;33(6):1358-1364.
53. Missiha SB, Ostrowski M, Heathcote EJ. Disease progression in chronic hepatitis C: modifiable and nonmodifiable factors. *Gastroenterology*. May 2008;134(6):1699-1714.
54. Pavon-Castillero EJ, Munoz-de-Rueda P, Lopez-Segura R, et al. Importance of IL-10 and IL-6 during chronic hepatitis C genotype-1 treatment and their relation with IL28B. *Cytokine*. Feb 2013;61(2):595-601.
55. Munoz Espinosa LE. [Diagnosis of hepatitis C virus infection]. *Revista de gastroenterologia de Mexico*. Oct 2002;67 Suppl 2:S29-35.
56. De Lamballerie X. Serological and molecular biology screening techniques for HVC infection. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*. 1996;11 Suppl 4:9-11.
57. Pawlotsky JM. Molecular diagnosis of viral hepatitis. *Gastroenterology*. May 2002;122(6):1554-1568.
58. Shiffman ML, Ferreira-Gonzalez A, Reddy KR, et al. Comparison of three commercially available assays for HCV RNA using the international unit standard: implications for management of patients with chronic hepatitis C virus infection in clinical practice. *The American journal of gastroenterology*. May 2003;98(5):1159-1166.
59. S C, M BA, G D, F D, J R, JM P. 525 Hepatitis virus C RNA quantification by automated cobas ampliprep-cobas taqman 48 (CAP-CTM) real-time PCR assay. An evaluation of performance. *Journal of hepatology*. 2006;44(Supplement 2):S195-S196.
60. Saldanha J, Lelie N, Heath A. Establishment of the first international standard for nucleic acid amplification technology (NAT) assays for HCV RNA. *WHO Collaborative Study Group. Vox sanguinis*. 1999;76(3):149-158.
61. Ye Y, Yan YS, Chen G, et al. Molecular epidemiology of hepatitis C virus among different groups of people in the province of Fujian, China. *Archives of virology*. Mar 2013;158(3):611-618.
62. Zheng X, Pang M, Chan A, Roberto A, Warner D, Yen-Lieberman B. Direct comparison of hepatitis C virus genotypes tested by INNO-LiPA HCV II and TRUGENE HCV genotyping methods. *Journal of clinical virology : the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology*. Oct 2003;28(2):214-216.
63. Anderson JC, Simonetti J, Fisher DG, et al. Comparison of different HCV viral load and genotyping assays. *Journal of clinical virology : the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology*. Sep 2003;28(1):27-37.



64. Touni I, Tabll AA, Sobieh SS, Hewedy MA, Abd YS, Viazov S. Diagnosis of Hepatitis C Virus Infection Using a Novel Mouse Monoclonal Antibody to Detect Serum HCV E1/E2 Antigens. *Clinical laboratory*. Apr 01 2017;63(4):669-678.
65. Hoofnagle JH, Mullen KD, Jones DB, et al. Treatment of chronic non-A,non-B hepatitis with recombinant human alpha interferon. A preliminary report. *The New England journal of medicine*. Dec 18 1986;315(25):1575-1578.
66. Davis GL, Balart LA, Schiff ER, et al. Treatment of chronic hepatitis C with recombinant interferon alfa. A multicenter randomized, controlled trial. *The New England journal of medicine*. Nov 30 1989;321(22):1501-1506.
67. Ghany MG, Strader DB, Thomas DL, Seeff LB, American Association for the Study of Liver D. Diagnosis, management, and treatment of hepatitis C: an update. *Hepatology*. Apr 2009;49(4):1335-1374.
68. Di Bisceglie AM, Shindo M, Fong TL, et al. A pilot study of ribavirin therapy for chronic hepatitis C. *Hepatology*. Sep 1992;16(3):649-654.
69. Reichard O, Andersson J, Schvarcz R, Weiland O. Ribavirin treatment for chronic hepatitis C. *Lancet*. May 04 1991;337(8749):1058-1061.
70. Poynard T, Leroy V, Mathurin P, Cohard M, Opolon P, Zarski JP. Treatment of chronic hepatitis C by interferon for longer duration than six months. *Digestive diseases and sciences*. Dec 1996;41(12 Suppl):99S-102S.
71. Hadziyannis SJ, Sette H, Jr., Morgan TR, et al. Peginterferon-alpha2a and ribavirin combination therapy in chronic hepatitis C: a randomized study of treatment duration and ribavirin dose. *Annals of internal medicine*. Mar 02 2004;140(5):346-355.
72. Hezode C, Fontaine H, Dorival C, et al. Triple therapy in treatment-experienced patients with HCV-cirrhosis in a multicentre cohort of the French Early Access Programme (ANRS CO20-CUPIC) - NCT01514890. *Journal of hepatology*. Sep 2013;59(3):434-441.
73. Calleja JL, Pascasio JM, Ruiz-Antoran B, et al. Safety and efficacy of triple therapy with peginterferon, ribavirin and boceprevir within an early access programme in Spanish patients with hepatitis C genotype 1 with severe fibrosis: SVRw12 analysis. *Liver international : official journal of the International Association for the Study of the Liver*. Jan 2015;35(1):90-100.
74. Jacobson IM, Dore GJ, Foster GR, et al. Simeprevir with pegylated interferon alfa 2a plus ribavirin in treatment-naïve patients with chronic hepatitis C virus genotype 1 infection (QUEST-1): a phase 3, randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet*. Aug 02 2014;384(9941):403-413.
75. Manns M, Marcellin P, Poordad FPF, et al. 1413 Simeprevir (TMC435) with Peglnterferon/Ribavirin for treatment of chronic HCV genotype-1 infection in treatment-naïve patients: results from QUEST-2, a phase III trial. *Journal of hepatology*. 2013;58.
76. Hezode C, Hirschfield GM, Ghesquiere W, et al. Daclatasvir plus peginterferon alfa and ribavirin for treatment-naïve chronic hepatitis C genotype 1 or 4 infection: a randomised study. *Gut*. Jun 2015;64(6):948-956.
77. Pawlotsky JM. New hepatitis C therapies: the toolbox, strategies, and challenges. *Gastroenterology*. May 2014;146(5):1176-1192.

78. Londono MC, Perello C, Cabezas J, et al. The addition of a protease inhibitor increases the risk of infections in patients with hepatitis C-related cirrhosis. *Journal of hepatology*. Feb 2015;62(2):311-316.
79. Solbach P, Wedemeyer H. The New Era of Interferon-Free Treatment of Chronic Hepatitis C. *Viszeralmedizin*. Aug 2015;31(4):290-296.
80. Lawitz E, Sulkowski MS, Ghalib R, et al. Simeprevir plus sofosbuvir, with or without ribavirin, to treat chronic infection with hepatitis C virus genotype 1 in non-responders to pegylated interferon and ribavirin and treatment-naïve patients: the COSMOS randomised study. *Lancet*. Nov 15 2014;384(9956):1756-1765.
81. Lawitz E, Matusow G, DeJesus E, et al. Simeprevir plus sofosbuvir in patients with chronic hepatitis C virus genotype 1 infection and cirrhosis: A phase 3 study (OPTIMIST-2). *Hepatology*. Aug 2016;64(2):360-369.
82. Kwo P, Gitlin N, Nahass R, et al. Simeprevir plus sofosbuvir (12 and 8 weeks) in hepatitis C virus genotype 1-infected patients without cirrhosis: OPTIMIST-1, a phase 3, randomized study. *Hepatology*. Aug 2016;64(2):370-380.
83. Feld JJ, Kowdley KV, Coakley E, et al. Treatment of HCV with ABT-450/r-ombitasvir and dasabuvir with ribavirin. *The New England journal of medicine*. Apr 24 2014;370(17):1594-1603.
84. Poordad F, Hezode C, Trinh R, et al. ABT-450/r-ombitasvir and dasabuvir with ribavirin for hepatitis C with cirrhosis. *The New England journal of medicine*. May 22 2014;370(21):1973-1982.
85. Ferenci P, Bernstein D, Lalezari J, et al. ABT-450/r-ombitasvir and dasabuvir with or without ribavirin for HCV. *The New England journal of medicine*. May 22 2014;370(21):1983-1992.
86. Lawitz E, Gane E, Pearlman B, et al. Efficacy and safety of 12 weeks versus 18 weeks of treatment with grazoprevir (MK-5172) and elbasvir (MK-8742) with or without ribavirin for hepatitis C virus genotype 1 infection in previously untreated patients with cirrhosis and patients with previous null response with or without cirrhosis (C-WORTHY): a randomised, open-label phase 2 trial. *Lancet*. Mar 21 2015;385(9973):1075-1086.
87. Sulkowski M, Hezode C, Gerstoft J, et al. Efficacy and safety of 8 weeks versus 12 weeks of treatment with grazoprevir (MK-5172) and elbasvir (MK-8742) with or without ribavirin in patients with hepatitis C virus genotype 1 mono-infection and HIV/hepatitis C virus co-infection (C-WORTHY): a randomised, open-label phase 2 trial. *Lancet*. Mar 21 2015;385(9973):1087-1097.
88. Buti M, Gordon SC, Zuckerman E, et al. Grazoprevir, Elbasvir, and Ribavirin for Chronic Hepatitis C Virus Genotype 1 Infection After Failure of Pegylated Interferon and Ribavirin With an Earlier-Generation Protease Inhibitor: Final 24-Week Results From C-SALVAGE. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. Jan 01 2016;62(1):32-36.
89. Roth D, Nelson DR, Bruchfeld A, et al. Grazoprevir plus elbasvir in treatment-naïve and treatment-experienced patients with hepatitis C virus genotype 1 infection and stage 4-5 chronic kidney disease (the C-SURFER study): a combination phase 3 study. *Lancet*. Oct 17 2015;386(10003):1537-1545.

90. Hezode C, Colombo M, Bourliere M, et al. Elbasvir/Grazoprevir for Patients With Hepatitis C Virus Infection and Inherited Blood Disorders: A Phase III Study. *Hepatology*. Mar 03 2017.
91. Bourliere M, Gordon SC, Flamm SL, et al. Sofosbuvir, Velpatasvir, and Voxilaprevir for Previously Treated HCV Infection. *The New England journal of medicine*. Jun 01 2017;376(22):2134-2146.
92. Jacobson IM, Lawitz E, Gane EJ, et al. Efficacy of 8 Weeks of Sofosbuvir, Velpatasvir, and Voxilaprevir in Patients With Chronic HCV Infection: 2 Phase 3 Randomized Trials. *Gastroenterology*. Apr 05 2017.
93. Lawitz E, Poordad F, Wells J, et al. Sofosbuvir-velpatasvir-voxilaprevir with or without ribavirin in direct-acting antiviral-experienced patients with genotype 1 hepatitis C virus. *Hepatology*. Jun 2017;65(6):1803-1809.
94. Nelson DR, Cooper JN, Lalezari JP, et al. All-oral 12-week treatment with daclatasvir plus sofosbuvir in patients with hepatitis C virus genotype 3 infection: ALLY-3 phase III study. *Hepatology*. Apr 2015;61(4):1127-1135.
95. Leroy V, Angus P, Bronowicki JP, et al. Daclatasvir, sofosbuvir, and ribavirin for hepatitis C virus genotype 3 and advanced liver disease: A randomized phase III study (ALLY-3+). *Hepatology*. May 2016;63(5):1430-1441.
96. McPhee F, Hernandez D, Zhou N, et al. Pooled analysis of HCV genotype 1 resistance-associated substitutions in NS5A, NS3 and NS5B pre- and post-treatment with 12 weeks of daclatasvir, asunaprevir and beclabuvir. *Antiviral therapy*. Jun 08 2017.
97. Kowdley KV, Gordon SC, Reddy KR, et al. Ledipasvir and sofosbuvir for 8 or 12 weeks for chronic HCV without cirrhosis. *The New England journal of medicine*. May 15 2014;370(20):1879-1888.
98. Zeuzem S, Jacobson IM, Baykal T, et al. Retreatment of HCV with ABT-450/r-ombitasvir and dasabuvir with ribavirin. *The New England journal of medicine*. Apr 24 2014;370(17):1604-1614.
99. Feld JJ, Jacobson IM, Hezode C, et al. Sofosbuvir and Velpatasvir for HCV Genotype 1, 2, 4, 5, and 6 Infection. *The New England journal of medicine*. Dec 31 2015;373(27):2599-2607.
100. Foster GR, Afdhal N, Roberts SK, et al. Sofosbuvir and Velpatasvir for HCV Genotype 2 and 3 Infection. *The New England journal of medicine*. Dec 31 2015;373(27):2608-2617.
101. Curry MP, O'Leary JG, Bzowej N, et al. Sofosbuvir and Velpatasvir for HCV in Patients with Decompensated Cirrhosis. *The New England journal of medicine*. Dec 31 2015;373(27):2618-2628.
102. Friedman SL. Fibrosis hepática. In: Schiff ER, Sorrell MF, Maddrey WC, eds. *Hígado: MARBAN LIBROS S.L.*; 2007:405-423.
103. Manning DS, Afdhal NH. Diagnosis and quantitation of fibrosis. *Gastroenterology*. May 2008;134(6):1670-1681.
104. Aguilera V, Berenguer M. Hepatitis C and fibrosis. *Revista española de enfermedades digestivas : organo oficial de la Sociedad Española de Patología Digestiva*. Jun 2004;96(6):402-408; 409-414.

105. Friedman SL. Stellate cells: a moving target in hepatic fibrogenesis. *Hepatology*. Nov 2004;40(5):1041-1043.
106. Li D, Friedman SL. Liver fibrogenesis and the role of hepatic stellate cells: new insights and prospects for therapy. *Journal of gastroenterology and hepatology*. Jul 1999;14(7):618-633.
107. Sarem M, Znaidak R, Macias M, Rey R. [Hepatic stellate cells: it's role in normal and pathological conditions]. *Gastroenterologia y hepatologia*. Feb 2006;29(2):93-101.
108. E O, Y S, T O, et al. Platelet count reflects stage of chronic hepatitis C. *Hepatology Research*. 1998;15(3):192-200.
109. Lackner C, Struber G, Liegl B, et al. Comparison and validation of simple noninvasive tests for prediction of fibrosis in chronic hepatitis C. *Hepatology*. Jun 2005;41(6):1376-1382.
110. Stauber RE, Lackner C. Noninvasive diagnosis of hepatic fibrosis in chronic hepatitis C. *World journal of gastroenterology*. Aug 28 2007;13(32):4287-4294.
111. Wai CT, Greenson JK, Fontana RJ, et al. A simple noninvasive index can predict both significant fibrosis and cirrhosis in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology*. Aug 2003;38(2):518-526.
112. Shaheen AA, Myers RP. Diagnostic accuracy of the aspartate aminotransferase-to-platelet ratio index for the prediction of hepatitis C-related fibrosis: a systematic review. *Hepatology*. Sep 2007;46(3):912-921.
113. Forns X, Ampurdanes S, Llovet JM, et al. Identification of chronic hepatitis C patients without hepatic fibrosis by a simple predictive model. *Hepatology*. Oct 2002;36(4 Pt 1):986-992.
114. Sterling RK, Lissen E, Clumeck N, et al. Development of a simple noninvasive index to predict significant fibrosis in patients with HIV/HCV coinfection. *Hepatology*. Jun 2006;43(6):1317-1325.
115. Andersen ES, Christensen PB, Weis N. Transient elastography for liver fibrosis diagnosis. *European journal of internal medicine*. Jul 2009;20(4):339-342.
116. Kettaneh A, Marcellin P, Douvin C, et al. Features associated with success rate and performance of FibroScan measurements for the diagnosis of cirrhosis in HCV patients: a prospective study of 935 patients. *Journal of hepatology*. Apr 2007;46(4):628-634.
117. Castera L, Forns X, Alberti A. Non-invasive evaluation of liver fibrosis using transient elastography. *Journal of hepatology*. May 2008;48(5):835-847.
118. Sandrin L, Fourquet B, Hasquenoph JM, et al. Transient elastography: a new noninvasive method for assessment of hepatic fibrosis. *Ultrasound in medicine & biology*. Dec 2003;29(12):1705-1713.
119. Coco B, Oliveri F, Maina AM, et al. Transient elastography: a new surrogate marker of liver fibrosis influenced by major changes of transaminases. *Journal of viral hepatitis*. May 2007;14(5):360-369.
120. Fraquelli M, Rigamonti C, Casazza G, et al. Reproducibility of transient elastography in the evaluation of liver fibrosis in patients with chronic liver disease. *Gut*. Jul 2007;56(7):968-973.

121. Castera L. Invasive and non-invasive methods for the assessment of fibrosis and disease progression in chronic liver disease. *Best practice & research. Clinical gastroenterology*. Apr 2011;25(2):291-303.
122. Rozario R, Ramakrishna B. Histopathological study of chronic hepatitis B and C: a comparison of two scoring systems. *Journal of hepatology*. Feb 2003;38(2):223-229.
123. Powell LW, Kerr JF. Reversal of "cirrhosis" in idiopathic haemochromatosis following long-term intensive venesection therapy. *Australasian annals of medicine*. Feb 1970;19(1):54-57.
124. Kaplan MM, DeLellis RA, Wolfe HJ. Sustained biochemical and histologic remission of primary biliary cirrhosis in response to medical treatment. *Annals of internal medicine*. May 01 1997;126(9):682-688.
125. Pol S, Carnot F, Nalpas B, et al. Reversibility of hepatitis C virus-related cirrhosis. *Human pathology*. Jan 2004;35(1):107-112.
126. Serpaggi J, Carnot F, Nalpas B, et al. Direct and indirect evidence for the reversibility of cirrhosis. *Human pathology*. Dec 2006;37(12):1519-1526.
127. Calvaruso V, Di Marco V, Ferraro D, et al. Fibrosis evaluation by transient elastography in patients with long-term sustained HCV clearance. *Hepatitis monthly*. May 2013;13(5):e7176.
128. Poynard T, McHutchison J, Manns M, et al. Impact of pegylated interferon alfa-2b and ribavirin on liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C. *Gastroenterology*. May 2002;122(5):1303-1313.
129. Ismail MH, Pinzani M. Reversal of hepatic fibrosis: pathophysiological basis of antifibrotic therapies. *Hepatic medicine : evidence and research*. Jul 04 2011;3:69-80.
130. Poynard T, Bedossa P, Chevallier M, et al. A comparison of three interferon alfa-2b regimens for the long-term treatment of chronic non-A, non-B hepatitis. Multicenter Study Group. *The New England journal of medicine*. Jun 01 1995;332(22):1457-1462.
131. Shiffman ML, Sterling RK, Contos M, et al. Long term changes in liver histology following treatment of chronic hepatitis C virus. *Annals of hepatology*. Jul-Aug 2014;13(4):340-349.
132. Stasi C, Arena U, Zignego AL, et al. Longitudinal assessment of liver stiffness in patients undergoing antiviral treatment for hepatitis C. *Digestive and liver disease : official journal of the Italian Society of Gastroenterology and the Italian Association for the Study of the Liver*. Oct 2013;45(10):840-843.
133. Arima Y, Kawabe N, Hashimoto S, et al. Reduction of liver stiffness by interferon treatment in the patients with chronic hepatitis C. *Hepatology research : the official journal of the Japan Society of Hepatology*. Apr 2010;40(4):383-392.
134. Ogawa E, Furusyo N, Shimizu M, et al. Non-invasive fibrosis assessment predicts sustained virological response to telaprevir with pegylated interferon and ribavirin for chronic hepatitis C. *Antiviral therapy*. 2015;20(2):185-192.
135. Maylin S, Martinot-Peignoux M, Moucari R, et al. Eradication of hepatitis C virus in patients successfully treated for chronic hepatitis C. *Gastroenterology*. Sep 2008;135(3):821-829.

136. Bernstein D, Kleinman L, Barker CM, Revicki DA, Green J. Relationship of health-related quality of life to treatment adherence and sustained response in chronic hepatitis C patients. *Hepatology*. Mar 2002;35(3):704-708.
137. Veldt BJ, Heathcote EJ, Wedemeyer H, et al. Sustained virologic response and clinical outcomes in patients with chronic hepatitis C and advanced fibrosis. *Annals of internal medicine*. Nov 20 2007;147(10):677-684.
138. Cardoso AC, Moucari R, Figueiredo-Mendes C, et al. Impact of peginterferon and ribavirin therapy on hepatocellular carcinoma: incidence and survival in hepatitis C patients with advanced fibrosis. *Journal of hepatology*. May 2010;52(5):652-657.
139. Aleman S, Rahbin N, Weiland O, et al. A risk for hepatocellular carcinoma persists long-term after sustained virologic response in patients with hepatitis C-associated liver cirrhosis. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. Jul 2013;57(2):230-236.
140. Pradat P, Tillmann HL, Sauleda S, et al. Long-term follow-up of the hepatitis C HENCORE cohort: response to therapy and occurrence of liver-related complications. *Journal of viral hepatitis*. Aug 2007;14(8):556-563.
141. Lupsor Platon M, Stefanescu H, Feier D, Maniu A, Badea R. Performance of unidimensional transient elastography in staging chronic hepatitis C. Results from a cohort of 1,202 biopsied patients from one single center. *Journal of gastrointestinal and liver diseases : JGLD*. Jun 2013;22(2):157-166.
142. Pang JX, Zimmer S, Niu S, et al. Liver stiffness by transient elastography predicts liver-related complications and mortality in patients with chronic liver disease. *PloS one*. 2014;9(4):e95776.
143. Kwo PY, Lawitz EJ, McCone J, et al. Efficacy of boceprevir, an NS3 protease inhibitor, in combination with peginterferon alfa-2b and ribavirin in treatment-naïve patients with genotype 1 hepatitis C infection (SPRINT-1): an open-label, randomised, multicentre phase 2 trial. *Lancet*. Aug 28 2010;376(9742):705-716.
144. Bacon BR, Gordon SC, Lawitz E, et al. Boceprevir for previously treated chronic HCV genotype 1 infection. *The New England journal of medicine*. Mar 31 2011;364(13):1207-1217.
145. Sherman KE, Flamm SL, Afdhal NH, et al. Response-guided telaprevir combination treatment for hepatitis C virus infection. *The New England journal of medicine*. Sep 15 2011;365(11):1014-1024.
146. Zeuzem S, Andreone P, Pol S, et al. Telaprevir for retreatment of HCV infection. *The New England journal of medicine*. Jun 23 2011;364(25):2417-2428.
147. European Association for the Study of the Liver. Electronic address eee. EASL Recommendations on Treatment of Hepatitis C 2016. *Journal of hepatology*. Jan 2017;66(1):153-194.
148. Reddy KR, Lim JK, Kuo A, et al. All-oral direct-acting antiviral therapy in HCV-advanced liver disease is effective in real-world practice: observations through HCV-TARGET database. *Alimentary pharmacology & therapeutics*. Jan 2017;45(1):115-126.
149. A SPECIAL MEETING REVIEW EDITION: Advances in the Treatment of Hepatitis C Virus Infection From the 2016 EASL Meeting: The Annual Meeting of the European Association for the Study of the Liver \* April 13-17, 2016 \* Barcelona, Spain Special Reporting on: \* Six Weeks of Sofosbuvir/Ledipasvir (SOF/LDV) Are Sufficient to Treat

Acute Hepatitis C Virus Genotype 1 Mono-infection: The HepNet Acute HCV IV Study\* Treatment of Hepatitis C Virus in Patients With Advanced Cirrhosis: Always Justified? Analysis of the HEPA-C Registry\* High Efficacy of Sofosbuvir/Velpatasvir Plus GS-9857 in Previously Treated Patients With HCV Genotypes 1 Through 6\* Prevalence and Impact of Baseline Resistance-Associated Variants (RAVs) on the Efficacy of Ledipasvir/Sofosbuvir or Simeprevir/Sofosbuvir Against GT1 HCV Infection: HCV-TARGET Interim Analysis\* Sofosbuvir/Velpatasvir for 12 Weeks in Patients Coinfected With HCV and HIV-1: The ASTRAL-5 Study\* 100% SVR12 With ABT-493 and ABT-530 With or Without Ribavirin in Treatment-Naïve HCV Genotype 3-Infected Patients With CirrhosisPLUS Meeting Abstract SummariesWith Expert Commentary by:Steven L. Flamm, MDChief, Liver Transplantation ProgramProfessor of Medicine and SurgeryNorthwestern University Feinberg School of MedicineChicago, Illinois. Gastroenterology & hepatology. Jun 2016;12(6 Suppl 2):1-22.

150. Manns M, Marcellin P, Poordad F, et al. Simeprevir with pegylated interferon alfa 2a or 2b plus ribavirin in treatment-naïve patients with chronic hepatitis C virus genotype 1 infection (QUEST-2): a randomised, double-blind, placebo-controlled phase 3 trial. *Lancet*. Aug 02 2014;384(9941):414-426.
151. Fernandez Carrillo C, Lens S, Llop E, et al. Treatment of hepatitis C virus infection in patients with cirrhosis and predictive value of model for end-stage liver disease: Analysis of data from the Hepa-C registry. *Hepatology*. Jun 2017;65(6):1810-1822.
152. Lens S, Rincon D, Garcia-Retortillo M, et al. Association Between Severe Portal Hypertension and Risk of Liver Decompensation in Patients With Hepatitis C, Regardless of Response to Antiviral Therapy. *Clinical gastroenterology and hepatology : the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association*. Oct 2015;13(10):1846-1853 e1841.
153. Nahon P, Bourcier V, Layese R, et al. Eradication of Hepatitis C Virus Infection in Patients With Cirrhosis Reduces Risk of Liver and Non-Liver Complications. *Gastroenterology*. Jan 2017;152(1):142-156 e142.
154. Singh S, Facciorusso A, Loomba R, Falck-Ytter YT. Magnitude and Kinetics of Decrease in Liver Stiffness After Anti-viral Therapy in Patients With Chronic Hepatitis C: A Systematic Review and Meta-analysis. *Clinical gastroenterology and hepatology : the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association*. May 04 2017.
155. Reig M, Marino Z, Perello C, et al. Unexpected high rate of early tumor recurrence in patients with HCV-related HCC undergoing interferon-free therapy. *Journal of hepatology*. Oct 2016;65(4):719-726.
156. Conti F, Buonfiglioli F, Scuteri A, et al. Early occurrence and recurrence of hepatocellular carcinoma in HCV-related cirrhosis treated with direct-acting antivirals. *Journal of hepatology*. Oct 2016;65(4):727-733.
157. Petta S, Cabibbo G, Barbara M, et al. Hepatocellular carcinoma recurrence in patients with curative resection or ablation: impact of HCV eradication does not depend on the use of interferon. *Alimentary pharmacology & therapeutics*. Jan 2017;45(1):160-168.
158. Camma C, Cabibbo G, Craxi A. Direct antiviral agents and risk for HCC early recurrence: Much ado about nothing. *Journal of hepatology*. Oct 2016;65(4):861-862.